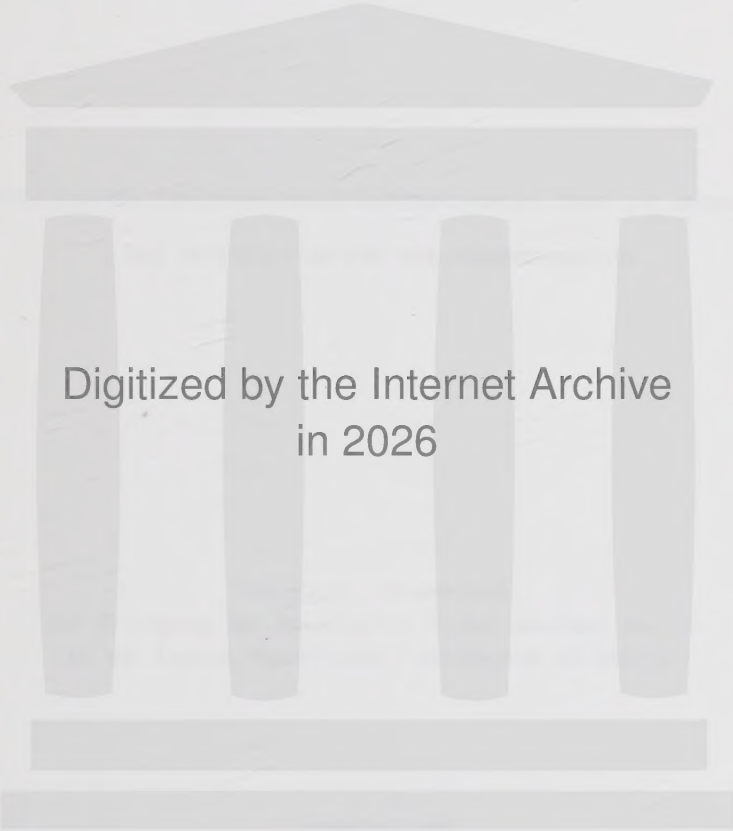


VERGLEICHENDE EXPERIMENTELLE
UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
BEDEUTUNG DES INTERSTITIUM
FÜR DIE NIERENFUNKTION

Klaus Tatsch

*Diss.
München
1995*





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554620_0096

Aus der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München

Direktor: Prof. Dr. E. Buchborn

VERGLEICHENDE EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BEDEUTUNG
DES INTERSTITIUM FÜR DIE NIERENFUNKTION

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Klaus Tatsch

aus

Kaufbeuren

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. G. H. Thoenes

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 7.6.85

Meinen Eltern

Abkürzungen

Ag	Antigen
AICN	Autologe Immunkomplexglomerulonephritis
Ak	Antikörper
Anti-GBM-GN	Antibasalmembranglomerulonephritis
BM	Basalmembran
CFA	Complettet Freund'sches Adjuvans
ERPF	Effektiver renaler Plasmafluß
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
GBM	Glomeruläre Basalmembran
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GN	Glomerulonephritis
IF	Immunfluoreszenz
IK	Immunkomplexe
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
RBF	Renaler Blutfluß
TBM	Tubuläre Basalmembran
TIN	Tubulointerstitielle Nephritis

I.	<u>Einleitung</u>	1
II.	<u>Material und Methoden</u>	5
	1. Versuchstiere, allgemeine tierexperimentelle Verfahren	5
	2. Induktion der Krankheitsmodelle	6
	2.1. Antibasalmembranglomerulonephritis	6
	2.2. Autologe Immunkomplexglomerulonephritis	8
	2.3. Tubulointerstitielle Nephritis	9
	3. Methoden zur Beurteilung der Struktur	10
	3.1. Makroskopische Veränderungen	10
	3.2. Histologie	11
	3.3. Immunhistologie	11
	3.4. Darstellung der arteriellen Nieren- gefäße mit Microfil	11
	4. Nierenfunktionsmessungen	13
	4.1. Serumretentionswerte	13
	4.2. Urinparameter	13
	4.3. Clearance - Methoden	13
	4.3.1. Allgemeine Grundvoraussetzungen	13
	4.3.2. Bestimmung der GFR	14
	- Konventionelle Methode	
	- Nuklearmedizinische Methode	
	4.3.3. Bestimmung des ERPF	19
	5. Statistik	19
III.	<u>Versuchsanordnung</u>	20
IV.	<u>Ergebnisse</u>	22
	1. Morphologische Untersuchungen	22
	1.1. Glomeruläre Erkrankungen	22
	1.1.1. Anti-GBM-GN	22
	1.1.2. AICN	31

1.2. Tubulointerstitielle Nephritis	35
2. Untersuchungen der Nierenfunktion	44
2.1. Methodenvergleich zur Bestimmung der GFR	44
2.2. Die Nierenfunktion bei den Krankheits- modellen	45
2.2.1. Glomeruläre Erkrankungen	45
2.2.1.1. Anti-GBM-GN	45
2.2.1.2. AICN	50
2.2.2. Tubulointerstitielle Nephritis	52
3. Gegenüberstellung der untersuchten Krankheitsmodelle	57
 V. <u>Diskussion</u>	 62
1. Die Methoden zur Bestimmung der Nierenfunktion	62
2. Pathophysiologische Erklärungsmöglichkeiten veränderter Nierenfunktion	65
3. Die Krankheitsmodelle	70
3.1. Glomeruläre Erkrankungen	70
3.1.1. Anti-GBM-GN	70
3.1.2. AICN	74
3.2. Tubulointerstitielle Nephritis	76
 VI. <u>Zusammenfassung</u>	 83
 <u>Literaturverzeichnis</u>	 85

I. Einleitung

Die Zusammenhänge zwischen der Morphologie eines Organs und seiner Funktion stehen schon lange im Blickpunkt medizinischen Interesses. Für die gleichzeitige Beurteilung pathologischer Gewebsveränderungen und ihre Auswirkungen auf die Organfunktion am lebenden Menschen fehlten aber lange Zeit die Voraussetzungen. Auf die Niere bezogen sind erst mit Einführung der Nierenbiopsie und differenzierter Methoden zur Beurteilung der Nierenfunktion die Grundlagen für erfolgversprechende Untersuchungen dieser Art geschaffen worden.

In den 50er Jahren wurden erste Versuche unternommen, am Biopsiematerial von Patienten mit Glomerulonephritis (GN) die strukturellen Veränderungen zur Nierenfunktion in Beziehung zu setzen. Die Aufmerksamkeit der Pathologen war dabei fast ganz auf die Veränderungen an den Nierenkörperchen gerichtet. Unter diesem Blickwinkel versuchten sie das Ausmaß der beobachteten Veränderungen am Glomerulum zu quantifizieren und zu der glomerulären Filtrationsrate (GFR) in Beziehung zu setzen. Dabei resultierten nur mäßig gute Korrelationen (15,40). Ende der 60er Jahre griffen in einer ähnlichen Untersuchung Risdon et al. (44) das Problem auf. Im Gegensatz zu den Voruntersuchungen werteten sie aber nicht alle beobachteten glomerulären Veränderungen gleich, sondern wichteten vor allem diejenigen, denen sie entscheidende Bedeutung für die Nierenfunktion beimaßen. Zwei überraschende Befunde waren das Ergebnis: Man konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem Ausmaß des glomerulären Schadens und der Kreatinin-Clearance nachweisen. Stattdessen wurde ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen dem Grad tubulointerstitieller Veränderungen und der Kreatinin-Clearance festgestellt. Striker, Schainuck et al. (50,51) kamen zwei Jahre später zu dem gleichen Ergebnis. In ausführlichen Untersuchungen konnten sie darüber hinaus zeigen, daß diese Korrelation nicht nur für die GN Gültigkeit hat, sondern unabhängig von der Art der

renalen Grunderkrankung auftreten kann, sofern sie das Interstitium beeinflußt.

Unter Verwendung einer morphometrischen Methode konnten Bohle und Mitarbeiter Ende der 70er Jahre die morphologischen Veränderungen des Interstitium quantitativ erfassen; damit war der erfolgreiche Versuch einer objektiven Wertung der Befunde an Nierenbiopsien des Menschen gemacht. In einer Reihe von Arbeiten hat diese Arbeitsgruppe an Biopsiematerial mit verschiedenen glomerulären Erkrankungen des Menschen (9,10,11) das Interstitium ausgemessen und gezeigt, daß Einschränkungen der Kreatinin-Clearance, unabhängig von Art und Ausmaß glomerulärer Schädigung, zur Breite des Nierenrindeninterstitium korrelieren. Aus diesen Befunden wurde abgeleitet, daß pathologische Prozesse im Interstitium in stärkerem Maße Einfluß auf die GFR nehmen können, als Glomerula allein, selbst wenn diese hochgradig entzündlich verändert sind.

Zur Erklärung wurden folgende Vorstellungen entwickelt (11,12): Eine Zunahme des interstitiellen Raums in der Nierenrinde geht mit einer Kompression bzw. Verödung postglomerulärer Kapillaren einher. Eine Widerstandserhöhung in diesem Gefäßabschnitt beeinflußt den Blutfluß im Glomerulum und damit auch die GFR in negativer Weise. Daneben geht mit einer Zunahme des interstitiellen Raums auch eine Zunahme der Diffusionsstrecken im Interstitium einher. Als Folge davon treten Störungen der Tubuluszellfunktion mit Beeinträchtigung der Flüssigkeitsresorption aus den Harnkanälchen auf. Daraus wird eine intratubuläre Druckerhöhung abgeleitet, die der Filtration gleichfalls entgegenwirkt.

Wir haben uns in dieser Arbeit die Aufgabe gestellt, auf experimenteller Ebene die Gültigkeit der Vorstellungen zu überprüfen, die am Biopsiematerial des Menschen erhoben wurden. Durch Erweiterung der Untersuchungsparameter sollen zusätzliche und weiterführende Aussagen erzielt werden. Wir hoffen damit zu experimentell gesicherten Grundlagen für theoretische Überlegungen darüber zu kommen, wie pathologische Veränderungen des Nierenrindeninterstitium die Nierenfunktion beeinflussen können.

Wir haben an drei immunologisch verursachten Nierenerkrankungen der Ratte über einen festgelegten Beobachtungszeitraum umfassende Untersuchungen zur Morphologie und Nierenfunktion durchgeführt. Dabei steht eine klar definierte tubulointerstitielle Nephritis zwei ebenso eindeutig abgegrenzten glomerulären Erkrankungen gegenüber.

Mit der Antibasalmembranglomerulonephritis (Anti-GBM-GN) wurde ein glomeruläres Krankheitsmodell gewählt, bei dem unter Bildung und Ablagerung von Antikörpern an der GBM ein Entzündungsprozeß abläuft, der histologisch dem Bild einer rapid progressiven GN des Menschen ähnlich ist. Seit der ersten Beschreibung dieses Krankheitsbildes im Experiment von Masugi 1933 (37), wurden durch die Erkennung des Antigens im Glomerulum (26) und weitere experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese (21,54,55) große Fortschritte im Verständnis der immunologischen Vorgänge am Glomerulum erzielt. Die experimentelle Anti-GBM-GN ist aufgrund ihrer Ähnlichkeit zu der Anti-GBM-GN des Menschen, vor allem im Zusammenhang mit dem Goodpasture-Syndrom, bevorzugtes Krankheitsmodell für vergleichende Untersuchungen, allerdings meist mit immunologischen Fragestellungen. Den Auswirkungen der Erkrankung auf die Nierenfunktion wurden im Vergleich dazu bisher nur relativ selten nachgegangen (1,3,34,45).

Letzteres gilt ähnlich für das zweite untersuchte Krankheitsmodell, die autologe Immunkomplex-GN (AICN), die als Immunkomplexkrankheit ein weiteres pathogenetisches Prinzip einer glomerulären Erkrankung darstellt. Erstmals 1959 von Heymann (23) im Experiment beschrieben, wurde mit Erkennung und Isolierung des Antigens (18) und Untersuchungen zur Pathogenese (19,20) das Verständnis für diese andersartigen Immunvorgänge am Glomerulum gestärkt.

Den beiden glomerulären Erkrankungen wurde als wichtigster Teil dieser Arbeit eine interstitielle Erkrankung (TIN), verursacht durch Tubulus-Basalmembran-Antikörper, gegenüberge-

stellt. Der Entzündungsprozeß spielt sich im Interstitium der Nierenrinde ab, die Glomerula bleiben dabei ausgespart und gesund. Die Entdeckung dieses Krankheitsprinzips liegt vergleichsweise kurz zurück, denn erst 1971 wurde es von Steblay und Rudofsky (48) am Meerschweinchen beschrieben. Bald darauf wurde gezeigt, daß es auch in der Ratte auslösbar ist (33,52). Seit man erkannt hatte, daß das Interstitium damit einer ähnlichen Pathogenese zugänglich sein kann wie die Glomerula, wurde dem Auftreten von TBM-Antikörpern auch beim Menschen vermehrt Beachtung geschenkt (2,13,38).

Diese drei experimentellen Krankheitsmodelle sind die Grundlagen für unsere Untersuchungen über den Einfluß des Interstitium auf die Gesamtfunktion der Niere.

Außer der Beschreibung des makroskopischen Befundes, der Histologie und der Immunhistologie, wurde das arterielle Gefäßsystem der erkrankten Nieren dargestellt. Zur Beurteilung der Nierenfunktion wurden neben Urinparametern und Serumretentionswerten der effektive renale Plasmafluß (ERPF) und die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) mit nuklearmedizinischen Methoden bestimmt.

II. Material und Methoden

1. Versuchstiere, allgemeine tierexperimentelle Verfahren

Tiere

Die Versuche wurden mit Inzuchtratten genetisch definierter Stämme durchgeführt. Da die Auslösbarkeit der Erkrankung bei zwei der drei untersuchten Krankheitsmodelle von bestimmten genetischen Merkmalen abhängt (27,49), war die Wahl geeigneter Versuchsstämme vorgegeben. Die Krankheiten ließen sich bei folgenden Tieren induzieren:

Krankheitsmodelle	Versuchstamm
Anti-GBM-GN	BN
AICN	(Lew x BN) ₁ -Hybriden
TIN	BN

Zucht und Haltung der Tiere erfolgten unter konventionellen, aber pathogenarmen Bedingungen im laboreigenen Tierstall. Für die Versuche wurden ausschließlich männliche Ratten im Alter von ca. vier Monaten und einem Ausgangsgewicht um 250g verwendet.

Narkosen

Für die Clearanceuntersuchungen und Microfilexperimente wurden die Tiere mit Chloralhydrat narkotisiert. Eine 7,5%ige Lösung wurde in einer üblichen Dosis von 30mg/100g Körpergewicht (5) intraperitoneal verabreicht. Der Blutdruck blieb während des Versuchs konstant, die Narkose war leicht steuerbar und eine häufige Wiederholung am gleichen Tier möglich. Alle weiteren Eingriffe erfolgten in Inhalationsnarkose mit Narkoseäther der Firma Höchst.

Blutabnahme

Nach Präparation der V. femoralis wurde mit einer 1ml-Tuberkulinspritze und einer 18er Kanüle 0,5ml Blut schonend entnommen und die Wunde anschließend mit zwei Hautnähten verschlossen. Das gewonnene Serum wurde bis zur Weiterverarbeitung bei -30°C aufbewahrt.

Uringewinnung

Zur Gewinnung konzentrierten Harns wurden die Tiere für 16-stündige Sammelperioden ohne Trinkmöglichkeit bei nicht kontrollierter, jedoch gleichmäßiger Luftfeuchtigkeit im Raum in Stoffwechselkäfige gesetzt.

Auf spezielle tierexperimentelle Verfahren wird ausführlich in den entsprechenden Methodikkapiteln eingegangen.

2. Induktion der Krankheitsmodelle

2.1. Anti-GBM-GN

Diese GN-Form wird durch Injektion eines heterologen Antiserum gegen GBM hervorgerufen. Das Serum läßt sich durch Immunisierung von Kaninchen mit Rattenglomerula gewinnen.



Herstellung des Antibasalmembranserum

Die Präparation der Glomerula erfolgte nach dem erprobten Verfahren von Solomon et. al. (47); die Grundzüge werden kurz aufgeführt. Rinde von Rattennieren wird unter leichtem Druck durch ein angefeuchtetes Edelstahlprüfsieb gepresst und mit reichlich NaCl nachgespült. Die verwendete Maschengröße von 180µm erlaubt die weitgehend unbehinderte Passage der Glomerula, Bindegewebsbestandteile und längere Tubulusfragmente dagegen bleiben auf dem Sieb zurück. Sämtliche Präparationen erfolgen auf Eis bzw. mit gekühlten Lösungen. Aus der gewonnenen Suspension werden die Glomerula 10 Min. bei 1000g abzentrifugiert und so lange in PBS gewaschen bis der Überstand klar ist. Mikroskopische Kontrolle des Sediment zeigt dicht gepackte Glomerula mit geringen Verunreinigungen, die für den Zweck der Immunisierung ohne Bedeutung sind, da erfahrungsgemäß nur gegen das glomeruläre Antigen wirksame Antikörper entstehen.

Die Immunisierung von zwei weißen Neuseeländer-Kaninchen mit diesem Material erfolgte leicht modifiziert nach Baxter und Goodman (4). Über einen Zeitraum von 3 1/2 Monaten fanden in zweiwöchentlichen Abständen Immunisierungen statt. Die ersten beiden Male wurden Glomerula in lyophilisierter Form zusammen mit CFA (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA) in Form zahlreicher kleiner Depots subcutan in Nacken und Rücken appliziert, alle folgenden Immunisierungen wurden mit frisch präpariertem Material, i.p. verabreicht, durchgeführt. Eine Einzeldosis enthielt die Glomerula von 15 Rattennieren in ca. 5ml NaCl aufgeschwemmt. 4 Monate nach Beginn der Immunisierung erfolgte die Entblutung der Kaninchen durch Herzpunktion. Das Antibasalmembranserum der beiden Tiere wurde gepoolt und in Einzelportionen bei -30°C aufbewahrt, die Gesamtmenge betrug ungefähr 100ml.

Induktion der Antibasalmembranglomerulonephritis

Die Ratten erhielten eine einmalige i.v. Injektion von 1ml des

gepoolten Serum in die Penisvene. Diese Immunisierungsdosis ergab sich aus Vorversuchen; sie ist von der Potenz des Serum abhängig und wurde so gewählt, daß die Tiere am Tag nach der Injektion eine hochgradige Proteinurie zeigen, den geplanten Beobachtungszeitraum aber gut überleben. Kontrolltiere wurden auf gleiche Art, aber mit normalem Kaninchenserum behandelt.

2.2. AICN

Autoimmunisierung von Ratten mit dem cytoplasmatischen Bürstensaumantigen proximaler Nierentubuli führt zu einer Immunkomplex- GN. Zur Immunisierung wird eine relativ gering gereinigte Cytoplasmafraktion aus Nierenrinde mit der Bezeichnung Fx1A (18) verwendet.



Präparation von Fx1A

Die Herstellung von Fx1A geschah nach der Methode von Edgington et al. (18). Nierenrinde von 200 Sprague-Dawley Ratten wird durch ein Sieb gedrückt und sorgfältig mit NaCl nachgespült. Aus der erhaltenen Suspension werden bei niedriger Umdrehungszahl (30 Min., 1500g) die schweren Bestandteile (z.B. Glomerula) sedimentiert und verworfen. Der Überstand wird 60 Min. bei 34000g in der Ultrazentrifuge weiterbehandelt. Nach diesem Vorgang enthält das Sediment neben anderen kleinmolekularen Anteilen das gewünschte Bürstensaumantigen. Dieses Sediment trägt die Bezeichnung Fx1A. In mehreren Waschvorgängen mit dest. Wasser wird es salzfrei gemacht, gefriergetrocknet und trocken bei -30°C aufbewahrt. Die Gewichtsrelation Nierenrindenfeuchtgewicht zu lyophilisiertem Material beträgt etwa 100:1.

Immunisierung mit Fx1A

Pro Tier werden jeweils 10 mg Fx1A in 0,2 ml NaCl suspendiert und mit der gleichen Menge CFA gekühlt zu einer stabilen Emulsion vermischt. Die Immunisierung erfolgt durch tiefe Injektion der Emulsion in beide hintere Fußsohlen. Kontrollen erhalten eine gleichartige Emulsion ohne Antigenzusatz.

2.3. TIN

Immunisierung mit heterologer (z.B. aus Schafnierenrinde) oder auch homologer TBM löst bei Ratten eine TIN im Rindenbereich der Niere aus. Die Glomerula bleiben unbeteiligt.



TBM Präparation

Die Herstellung von TBM ist durch Krieger (28) im Labor eingeführt und in Anlehnung an die methodischen Mitteilungen anderer Autoren (29,33) standardisiert worden. Grob zerkleinerte Nierenrinde frisch geschlachteter Schafe wird in kleinen Portionen auf einem Edelstahlprüfsieb, Maschengröße 125µm, leicht zu Brei verrieben und mehrmals mit PBS aufgeschwemmt. Dieser Vorgang führt zu einer groben Trennung von Glomerula und Tubuli. Bei dem gewählten Maschendurchmesser können die Glomerula frei passieren, die Tubulusfragmente dagegen bleiben auf dem Sieb zurück. Sie werden vorsichtig in ein Gefäß übergespült. Nach weiterer Zerkleinerung in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator wird das gewonnene Tubulusmaterial 15 Min. bei 400g zentrifugiert und in PBS gewaschen, bis der Überstand klar ist. Mikroskopische

Kontrolle des Sediment zeigt dicht gepackte Tubulusschläuche bei geringen Verunreinigungen durch glomeruläre Anteile und Bindegewebe. Durch Beschallung mit einem Ultraschallgerät mit Mikrospitze (Branson Sonic Power Company, Conn.,USA) in einem Röhrchen mit Eiskühlung für ca. 4 Min. wird die BM von den Tubulusfragmenten getrennt. Restliche zelluläre Bestandteile werden durch Überführung in eine 1-molare NaCl-Lösung zerstört und in mehreren Waschvorgängen bei 3000g durch Absaugen des Überstands entfernt. Das Sediment besteht überwiegend aus TBM und wird durch schrittweise Überführung in aqua dest. salzfrei gemacht, gefriergetrocknet und bei -30°C trocken aufbewahrt. Die Gewichtsrelation Nierenrindenfeuchtgewicht zu lyophilisierter TBM beträgt etwa 1000:1. Alle Versuche wurden mit Material aus einer Aufarbeitung durchgeführt.

Immunisierung mit TBM

Der Immunisierungsvorgang erfolgt nach der gleichen Technik wie bei der AICN; die Antigendosis pro Tier beträgt 10 mg TBM. Als zusätzliches Immunstimulans erhielten die Tiere 0,5ml B. pertussis-Suspension (3×10^{10} Keime/ml; Spende der Fa. Behring Marburg) in die Muskulatur der Hinterläufe injiziert. Dadurch wird eine von Tier zu Tier gleichmäßige Krankheitsentwicklung bewirkt sowie eine diffuse TIN erzielt. Kontrollen wurden auf gleiche Art ohne Antigenzusatz behandelt.

3. Methoden zur Beurteilung der Struktur

Für die morphologischen Untersuchungen wurden bei allen Krankheitsmodellen Tiere ausgewählt, die zum Tötungszeitpunkt hinsichtlich der Nierenfunktion in der Versuchsgruppe repräsentative Werte zeigten. Damit war die Grundlage geschaffen, Struktur und Funktion einander gegenüberzustellen.

3.1. Makroskopische Veränderungen

Die zu tötenden Tiere wurden in Narkose entblutet und die Nieren entnommen. Unter Schonung der Oberfläche wird die Kap -

sel entfernt. Nach Benetzung der Nieren mit kalter physiologischer NaCl-Lösung werden die makroskopisch sichtbaren Veränderungen befundet und fotodokumentiert (Nikon FE-Kamera, MEDICAL-Objektiv Nikon; Kodak Ektachrome 200). Im Anschluß daran werden die Nieren längsgeteilt und je zur Hälfte für die histologische und immunhistologische Bearbeitung verwendet.

3.2. Histologie

Nach Fixierung (4%ige gepufferte Formalin-Lösung) erfolgte die weitere Aufarbeitung der Nieren sowie größtenteils auch die Befundung der Präparate freundlicherweise durch Prof. Dr. K.H. Langer am Pathologischen Institut der Universität Mainz. Wir erhielten von allen eingesandten Nieren Präparate zur Verfügung gestellt um daran auch eigenständig die mikroskopischen Befunde zu erheben. Die Schnitte sind mit PAS oder nach Pearse angefärbt.

3.3. Immunhistologie

Am Cryostat hergestellte Gefrierschnitte (Dicke 4µm) werden auf einem Objektträger unter einem Kaltluftstrom getrocknet und anschließend 30 Min. in PBS gewässert. Für den Nachweis in vivo gebundener Ak (direkte Immunfluoreszenz) werden die Präparate mit FITC-konjugierten Antiseren in einer feuchten Kammer 30 Min. inkubiert. Anschließende einstündige Wässerung in PBS entfernt nicht gebundenes Antiserum. Nach Eindeckung mit Glycerin-PBS (Verhältnis 1:9) werden die Schnitte am Fluoreszenzmikroskop (Fa. Zeiss) mit Auflicht und Standard-Filtern befundet und fotografiert (Kodak Ektachrome 200).

3.4. Darstellung der arteriellen Nierengefäße mit Microfil

Bei Microfil (Canton Bio-Medical Products, Boulder, Colo., USA) handelt es sich um eine zunächst flüssige, wasserunlösliche Substanz aus Silikongummi, die nach Zugabe eines Härters zeit- und temperaturabhängig eine feste, aber elastische Konsistenz annimmt. Intravaskuläre Injektion dieses Materials

füllt das Gefäßsystem eines Organs einschließlich seiner Kapillaren. In unseren Versuchen wird die Methode angewandt, um den arteriellen Anteil der Nierengefäße darzustellen.

In vivo Füllung mit Microfil

Bei einem narkotisierten Tier wird die Haut im Halsbereich durch einen ca. 2 cm langen Schnitt horizontal durchtrennt und unter dem Operationsmikroskop die rechte A. carotis präpariert, unter sorgfältiger Schonung des direkt lateral verlaufenden N. vagus, im Hinblick auf eine konstante Herzfrequenz und Blutdruckverhältnisse. In die angeschlungene Arterie wird ein passend zubereiteter, über der Flamme ausgezogener Polyethylenkatheter nach kaudal eingeführt und fixiert. Ein kurzer, möglichst weitlumiger Katheter in Verbindung mit einer 20ml-Spritze gestattet anschließend in Sekunden die manuelle Bolusinjektion von etwa 7-10ml Microfilflüssigkeit pro Tier unter hohem Druck. Arterielle Druckmessung (s.u.) über einen Katheter in der linken A. femoralis erlaubt bei Registrierung des Injektionsdrucks für alle Microfilexperimente standardisierte Bedingungen zu schaffen. Es wird damit ausgeschlossen, daß unterschiedliche Gefäßfüllungen durch verschiedene Füllungsdruckwerte bedingt sein könnten. Die Höhe des Injektionsdrucks lag im Mittel bei 300mm Hg und damit weit über dem systolischen Blutdruck der Ratte (110-130mm Hg), der bei der Injektion zu überwinden ist. Eine systemische Heparinisierung des Tieres zu Beginn aller Manipulationen hält den A. femoralis-Katheter bis zum Zeitpunkt der Füllung offen und beugt einer Thrombenbildung im Gefäßsystem als Ursache eines Füllungshindernisses vor.

Aufarbeitung Microfil-gefüllter Nieren

Die Nieren bleiben bis zum Aushärten des Microfilmaterials in 50%iger Alkohollösung (ca. 1 Tag), bevor sie über die steigende Alkoholreihe vollständig dehydriert werden. Am Mikrotom hergestellte Schnitte einer Dicke von 200µm werden in Methylsilylat geklärt. Beurteilung und Dokumentation (Ilford FP4 SW-Film) erfolgten an einem Auflichtmikroskop mit geringen Vergrößerungsstufen. Das Mikroskop wurde mir freundlicherweise von Dr. Arnholdt am Pathologischen Institut der Universität

München zur Verfügung gestellt.

4. Nierenfunktionsmessungen

4.1. Serumretentionswerte

Serumanalysen wurden an einem Hitachi-Autoanalyzer 705 der Laboratorien für Klinische Chemie der Medizinischen Klinik Innenstadt (Leiter: Prof. Dr. Horn) durchgeführt. Die Kreatininbestimmung (Jaffe-Methode, kinetisch ohne Enteiweißung) und Ermittlung der Harnstoffwerte (kinetischer UV-Test) erfolgten mit auf das Gerät abgestimmten Automatenpackungen (Boehringer Mannheim). Zur Präzisionskontrolle diente Precinorm S Kontrollserum (Boehringer Mannheim). Jeder Einzelwert wurde aus Doppelbestimmungen gemittelt.

4.2. Urinparameter

Die Harnflußrate ließ sich aus dem gesammelten Urinvolumen pro Zeiteinheit errechnen. Der Proteingehalt des Urins wurde mit der Biuret-Methode ermittelt. Zur Messung der Harnosmolarität diente die Methode der Gefrierpunktserniedrigung (Mikroosmometer, Fa. Knauer).

4.3. Clearance-Methoden

4.3.1. Allgemeine Grundvoraussetzungen

Den Tieren für die Clearancemessungen stand stets Wasser ad libidum zur Verfügung, deshalb wurde in der Regel von einem ausgeglichenen Hydratationszustand ausgegangen. Die Körpertemperatur wurde während der Versuche konstant gehalten (37–38°C), um einen Abfall der Nierendurchblutung und des Glomerulumfiltrats durch Auskühlung der Versuchstiere in Narkose zu verhindern. Bei der konventionellen Bestimmung der GFR erlaubte der Anschluß an ein arterielles Druckmeßsystem die konstante Messung und Überwachung des Blutdrucks. Dazu wird nach

einem Leistenschnitt unter dem Operationsmikroskop die linke A. femoralis freipräpariert, angeschlungen und ein passender Polyethylenkatheter nach proximal eingeführt. Über ein geeignetes Verbindungsstück wird der Druck von einem Statham-System (Gould P231D) aufgenommen und einer Registriereinrichtung zugeführt. Das System gleicht damit der blutigen Druckmessung des Menschen. Das Gerät wurde freundlicherweise von der kardiologischen Abteilung (Dr. Haider) der Medizinischen Klinik Innenstadt zur Verfügung gestellt.

4.3.2. Bestimmungen der GFR

Sämtliche Clearance-Versuche wurden an den Geräten der Nuklearmedizinischen Abteilung der Radiologischen Klinik (Med. Klinik Innenstadt) durchgeführt. Die Clearancesubstanzen wurden freundlicherweise von PD. Dr. Leisner zur Verfügung gestellt.

Konventionelle Methode

Die GFR läßt sich aus der Harnflußrate und dem Verhältnis Urin/Plasmakonzentration einer geeigneten Clearancesubstanz unter zwei Voraussetzungen berechnen:

- quantitativ exakte Urinsammlung in den Meßperioden
 - Einstellung eines Fließgleichgewichts der Substanz im Verteilungsraum mit konst. Plasmaspiegel während des Versuchs
- Als Clearancesubstanz für GFR-Bestimmungen diente $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (Behringwerke).

An der narkotisierten Ratte wird nach einem Hautschnitt die Trachea freipräpariert und zur Sicherung ungestörter Atmung über die gesamte Narkosedauer ein Tubus eingelegt. An einen Polyethylenkatheter in der rechten Jugularvene wird ein Perfusor angeschlossen. Dauerinfusion von 0,4ml/h/100g KG einer $^{51}\text{Cr-EDTA-NaCl}$ -Lösung führt zur Einstellung des Gleichgewichtszustands unter üblichen hydropenischen Bedingungen. Nach einem medianen Unterbauchschnitt (1-2cm Länge) wird unter dem Mikroskop die Blase dargestellt, im Fundusbereich eröffnet und ein Katheter eingelegt. Sorgfältige Fixierung des Blasengewebes fest um den Katheter verhindert ein Urinparavasat. Gebildeter

Urin tropft nun frei aus dem Katheterende in ein Eppendorf-Röhrchen. Meßperioden beginnen 1 Stunde nach den chirurgischen Manipulationen. Zu diesem Zeitpunkt ist die Einstellung des Gleichgewichtszustandes abgeschlossen und der Totraum der Blase überwunden. In zwei aufeinanderfolgenden Urinsammelperioden à 30 Min. Dauer wird das Harnvolumen gemessen und die Harnflußrate errechnet. Eine Blutabnahme aus dem A. femoralis-Katheter begleitet Beginn und Ende jeder Meßperiode (Sandwichverfahren). Bestimmung der Zählrate des Isotops in den gewonnenen Serum- und Urinproben erfolgt am Bohrlochmeßplatz. Berechnung der GFR:

$$\text{GFR} = \text{Harnflußrate } (\mu\text{l/min/100g KG}) \times \frac{C_{\text{Urin}} \text{ (cpm)}}{C_{\text{Plasma}} \text{ (cpm)}}$$

Nuklearmedizinische Methode (Sondenmessung)

Meßprinzip:

Bestimmung der Nierenclearance erfolgt, entsprechend für die Ratte modifiziert, nach dem Verfahren der teilabgeschirmten Ganzkörpermessung (42). Nach einmaliger i.v. Injektion einer radioaktiv markierten Clearancesubstanz läßt sich die Ganzkörperabklingkurve im Organismus mit einem NaJ-Kristall als Detektor und nachgeschalteter Meßelektronik (Sondenmeßplatz der Fa. Picker) aufzeichnen. Allerdings muß dazu der Anteil der Aktivität, der kontinuierlich über die Niere ausgeschieden wird und sich in der Blase sammelt, von der Messung ausgeschlossen werden. Zu diesem Zweck ist die Bleiabschirmung der Nieren- und Blasenregion nötig (Prinzip der teilabgeschirmten Ganzkörpermessung). In Vorversuchen wurde deshalb zunächst mit einem Nierenszintigramm die Lage von Nieren und Blase in der Versuchsposition des Tiers geklärt (Abb. 1 links), um die nötige Abschirmfläche zu ermitteln. In dem Kontrollszintigramm mit Abschirmung (Abb. 1 rechts) konnte über Niere und Blase keine Aktivität mehr aufgezeichnet und damit die Wirksamkeit der Bleiabdeckung bewiesen werden. Sie wird in dieser Form in den folgenden Versuchen eingesetzt.



Abb.1: Ganzkörperszintigramm der Ratte; links ohne, rechts mit Bleiabschirmung der Nieren- und Blasenregion

GFR-Bestimmung:

Die narkotisierte Ratte wird auf dem Rücken liegend fixiert und in definiertem Abstand unter die Meßsonde gelegt (Abb.2). 1ml ^{51}Cr -EDTA-NaCl-Lösung bekannter Zählrate wird rasch i.v. in die Penisvene injiziert, die Bleiabdeckung in Position gebracht und die Ganzkörperretentionskurve (Abb.3) aufgezeichnet. Am Ende der 60minütigen Meßperiode wird der V. femoralis 0,8–1,0ml Blut entnommen und die Zählrate einer definierten Serummenge im Bohrloch ermittelt. Die Clearanceberechnung erfolgt unter Annahme eines Zweikompartimentmodells. Der erste Abschnitt der biphasischen Eliminationskurve kennzeichnet die Durchmischungsphase der Clearancesubstanz im Organismus direkt im Anschluß an die Injektion. Diese Phase läßt sich durch eine Exponentialfunktion mit kurzer Halbwertszeit beschreiben.

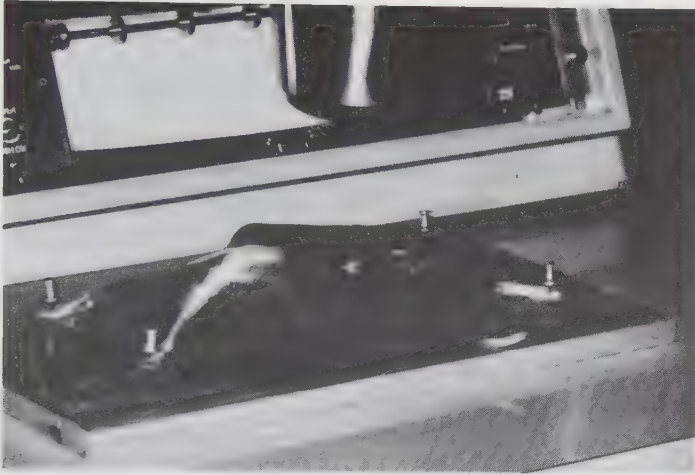


Abb.2: Versuchsanordnung (vereinfacht) am Sondenmeßplatz

Nach Abschluß der Verteilung spiegelt die Kurve im weiteren Verlauf die Elimination aus dem Blut wider und drückt sich in einer zweiten Exponentialfunktion mit längerer Halbwertszeit aus. Die zwei angesprochenen Exponentialfunktionen müssen für jede Kurve einzeln ermittelt werden. Dazu werden definierte Punkte aus dem Anfangs- und Endteil der Kurve in einen Rechner eingegeben und nach der Methode der kleinsten Quadrate Exponentialfunktionen durch diese Punkte angenähert. Aus der ersten Funktion läßt sich die Zählrate der Ganzkörperkurve zum Zeitpunkt 0 extrapolieren, nach Differenzieren der zweiten Funktion kann die Steigung der Kurve zum Zeitpunkt der Blutabnahme ermittelt werden. Beides stellen Grundvoraussetzungen für die Berechnung der Clearance dar, die nach der allgemeinen Beziehung von Oberhausen und Romahn (42) erfolgt. Entsprechend der hier ermittelten Meßgrößen wird sie nach Heidenreich et al. (22) umgeformt:

$$\text{Clearance} = \frac{1}{k} \times \frac{N_n^0}{N_c^0} \times \frac{V}{N_b} \times \frac{dN_c}{dt} \times \frac{100}{\text{KG}} \quad \text{ml/min/100g KG}$$

N_n^0 Zählrate der applizierten Aktivität

N_c^0 extrapolierte Zählrate der Ganzkörperkurve für die Zeit $t=0$

N_b Zählrate der Plasmaprobe (Bohrloch)

N_c Zählrate der Ganzkörperkurve

k Bohrlochfaktor

V Volumen der Plasmaprobe

KG Körpergewicht

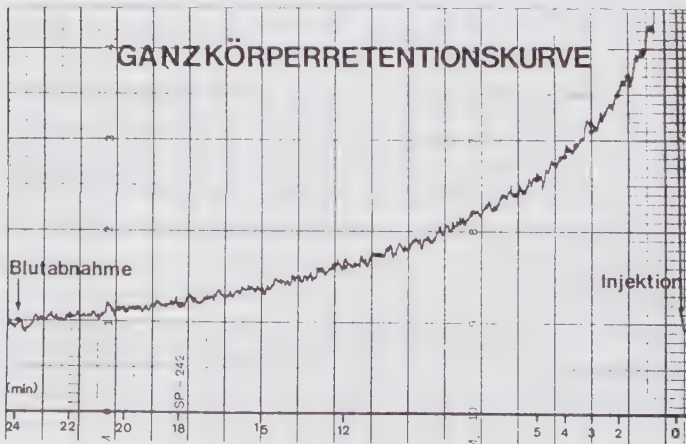


Abb.3: Ganzkörperretentionskurve am Beispiel einer ^{131}J -Hipp.
Clearance

4.3.3. Bestimmung des ERPF

Als geeignete Clearancesubstanz zur Ermittlung des ERPF wird ^{131}J -Hippuran (Fa. Byk-Mallinckrodt) eingesetzt. Die Versuchsdurchführung und Clearance-Berechnung erfolgten nach dem gleichen Prinzip wie die Bestimmung der GFR. Aufgrund der raschen Elimination dieser Substanz reichen Meßperioden von 25 Min. Dauer aus.

5. Statistik

Nierenfunktionswerte werden durchwegs als Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung für die jeweilige Versuchsgruppe angegeben. Beurteilung signifikanter Unterschiede erfolgt mit dem t-Test ($\alpha = 0,05$). Der Wilcoxon-Rangtest für ungepaarte Stichproben dient dem Vergleich der beiden unterschiedlichen Methoden zur GFR-Bestimmung.

III. Versuchsanordnung

Die Untersuchung der drei Modellerkrankungen hinsichtlich ihrer Morphologie und Nierenfunktion im zeitlichen Verlauf erlaubt es, zwei Versuchsziele zu erreichen:

- Bei jedem Einzelmodell können während des Krankheitsverlaufs die Nierenfunktionswerte zu der entsprechenden Morphologie in Beziehung gesetzt werden.
- Die Daten ermöglichen einen Vergleich der Erkrankungen miteinander. Für jedes Modell wurde hierfür das Stadium der massivsten Krankheitsausprägung, gemessen an der Nierenfunktion, herangezogen.

Als Beobachtungszeitraum sind 60 Tage festgelegt worden. Da Anti-GBM-GN und TIN Erkrankungen sind, die sich frühzeitig im Anschluß an die Immunisierung (1. bzw. 8. Tag) manifestieren, beginnt bei diesen Modellen der genannte Zeitraum mit dem Tag der Immunisierung. Der Phase der stärksten Krankheitsausprägung um den 15.-20. Tag folgt der Übergang in einen chronischen Verlauf, der durch die gewählte Frist somit ebenfalls erfaßt wird. Bei der AICN treten die typischen Veränderungen erst mit einer Latenz von mehreren Wochen auf. Von diesem Zeitpunkt an werden die Tiere ebenfalls über die festgelegte Dauer beobachtet, die fehlende Dynamik des Krankheitsprozesses macht aber eine Darstellung im Verlauf überflüssig und kann auf einen Wert beschränkt werden.

Die Bedingungen von

- statistisch signifikanter Aussage
- zumutbare Zahl der Einzelmanipulationen pro Tier und der zeitlichen Untersuchungsabstände sowie
- begrenzte Gesamttierzahl

mußten durch geeignete Versuchsplanung möglichst ideal miteinander verbunden werden. Zu diesem Zweck wurde nach dem in Tabelle 1 dargestellten Versuchsansatz vorgegangen.

MASUGI	Exp.	V.T./K.T.	0	1	5	10	15	20	30	40	50	60 d
Gruppe I	RBF	6/2	+			+		+		+		+
Gruppe II	GFR	6/2	+			+		+		+		+
Gruppe III	Serum Urin	8/2	+	+	+	+		+	+	+	+	+
	Makrosk. Histo. IF	1/0-1		+	+	+		+		+		+
Gruppe IV	Microfil	2/1			+	+		+	+			

TIN

Gruppe I	RBF	6/7	+			+		+		+		+
Gruppe II	GFR	6/2	+			+		+		+		+
Gruppe III	Serum Urin	11/7	+			+	+	+	+	+	+	+
	Makrosk. Histo. IF	1/0-1				+	+	+		+		+
Gruppe IV	Microfil	2/1				+	+	+	+			

AICN			120	130	140	150	160	170	180 d
Gruppe I	RBF	6/2	+	+	+		+		+
Gruppe II	GFR	6/2	+	+	+		+		+
Gruppe III	Serum Urin	11/2	+	+	+	+	+	+	+
	Makrosk. Histo. IF	1/0-1	+	+	+		+		+
Gruppe IV	Microfil	2/1			+				

V.T. = Versuchstierzahl K.T. = Kontrolltierzahl d = Tage nach Imm.

+ = Zeitpunkte an denen die unter Experiment (Exp.) aufgeführten Untersuchungen durchgeführt wurden

Tab.1: Versuchsansatz

IV. Ergebnisse

1. Morphologische Untersuchungen

1.1. Glomeruläre Erkrankungen

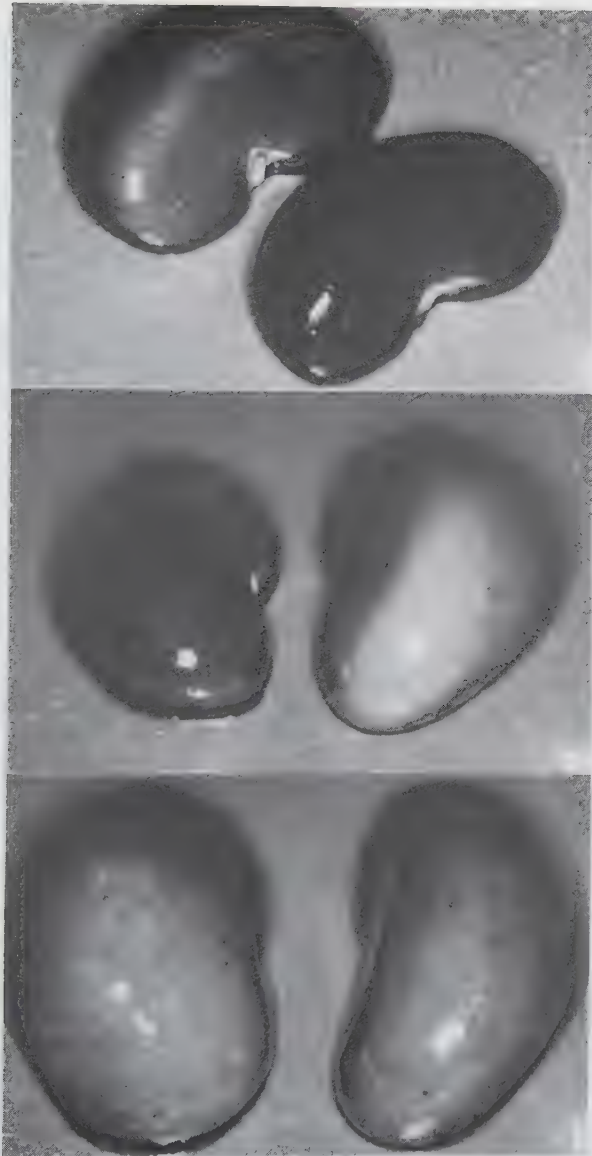
1.1.1. Anti-GBM-GN

Makroskopischer Befund

Einen Tag nach Immunisierung zeigt die Niere noch keine pathomorphologischen Auffälligkeiten, am 5. Tag aber, zu Beginn der autologen Phase, imponiert bei unveränderter Größe des Organs eine deutliche Blässe im Vergleich zu dem Farbton einer gesunden Niere (Abb. 4a). Bis zum 10. Tag hat neben dem Ausmaß an Blässe auch die Größe der Niere erheblich zugenommen, die bisher glatte Oberfläche der graugelben, geschwollenen Nieren erscheint nun granuliert mit vereinzelt flohstichartigen Blutungen (Abb. 4b). Dieses makroskopische Bild bleibt im weiteren Verlauf (20., 40. und 60. Tag) unverändert bestehen (Abb. 4c).

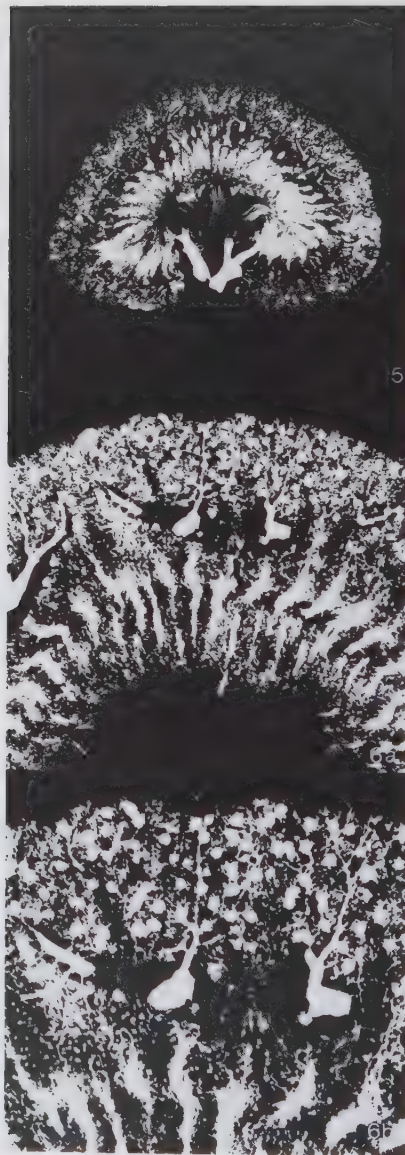
Microfildarstellung

Bevor pathologische Füllungszustände mit Microfil zur Sprache kommen, muß kurz auf das normale arterielle Gefäßsystem der Rattenniere (17,30) und seine Darstellung mit Microfil eingegangen werden. Befundet werden Längsschnitte in einer Schichtdicke von 200µm, die bevorzugt dem mittleren Nierenanteil entnommen sind. Mit Microfil gefüllte Gefäße stellen sich in den Abbildungen aufgrund der gewählten fotografischen Technik weiß dar. Aufzweigungen der A. renalis vor dem Nierenhilus lassen sich aus präparatorischen Gründen meist nicht oder nur teilweise darstellen. Die Aa. interlobares, die aus diesen Ästen hervorgehen, dringen vor bzw. hinter dem Nierenbecken in das Nierenparenchym vor. Sie lassen sich nur darstellen, wenn der be-



Anti-GBM-GN-Nieren

Makroskopische Befunde Abb.4a 5.Tag: li path.,re norm. Niere
 4b 10.Tag: li norm.,re path. Niere
 4c 20.Tag: li und re path. Nieren



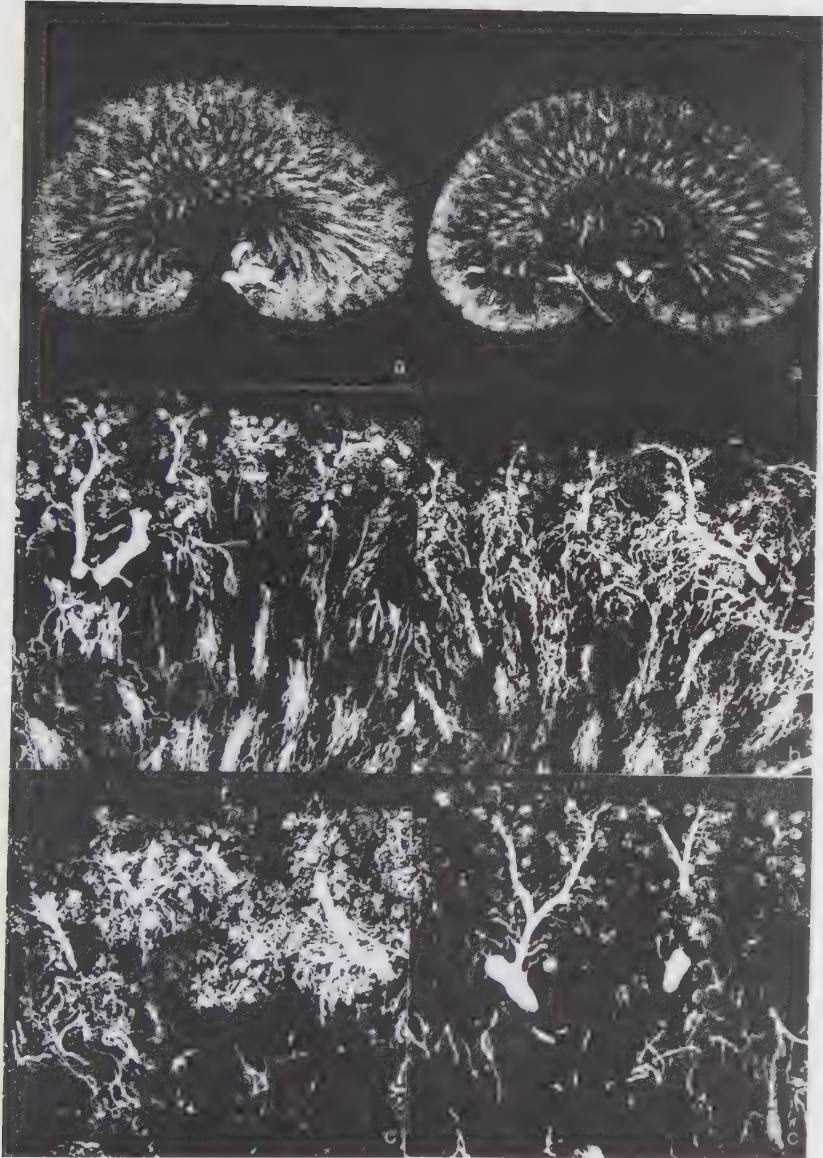
Microfildarstellung

Normalniere

Abb. 5: Übersicht

6: a stärkere

b Vergrößerungen



Microfildarstellung

Abb.7:Anti-GBM-GN-Niere 10.Tag Abb.8:Anti-GBM-GN-Niere 20.Tag

a) Übersicht

b) stärkere

c) Vergrößerungen

a) Übersicht

b) stärkere

c) Vergrößerungen

trachtete Schnitt nicht exakt aus dem mittleren Abschnitt der Niere stammt. Ihre Verzweigungen, die Aa. arcuatae, verlaufen bogenförmig an der Markrindengrenze und sind die größten gefüllten arteriellen Gefäße, die regelmäßig angetroffen werden. Aus ihnen entspringen die Interlobulararterien, die sich in ihrem radiären Verlauf in Richtung Nierenoberfläche in die V. aff. der Glomerula aufzweigen. Nierenkörperchen sind in der Übersicht als weiße Pünktchen zu erkennen (Abb. 5), erst stärkere Vergrößerung läßt ihren Charakter als Gefäßknäuel besser hervortreten (Abb. 6). Sie liegen eingebettet in das dichte Kapillargeflecht der Nierenrinde, das von den V. eff. der subcapsulären und intermediären Glomerula ausgeht. Die postglomerulären Gefäße der juxtamedulären Glomerula dagegen ziehen direkt in das Nierenmark und stellen die Quelle seiner arteriellen Blutversorgung dar. Sie ziehen als Arteriolen durch den Markaussenstreifen und teilen sich an der Grenze zum Innenstreifen in eine Vielzahl absteigender arterieller V. recta, die den arteriellen Anteil der Gefäßbündel des Markes stellen (Abb. 5, 6). Ohne weitere Aufteilung dringen diese Gefäße tiefer in Richtung Papille vor, wobei auf jeder Ebene ein Teil das Bündel verläßt um das umliegende Gewebe zu versorgen.

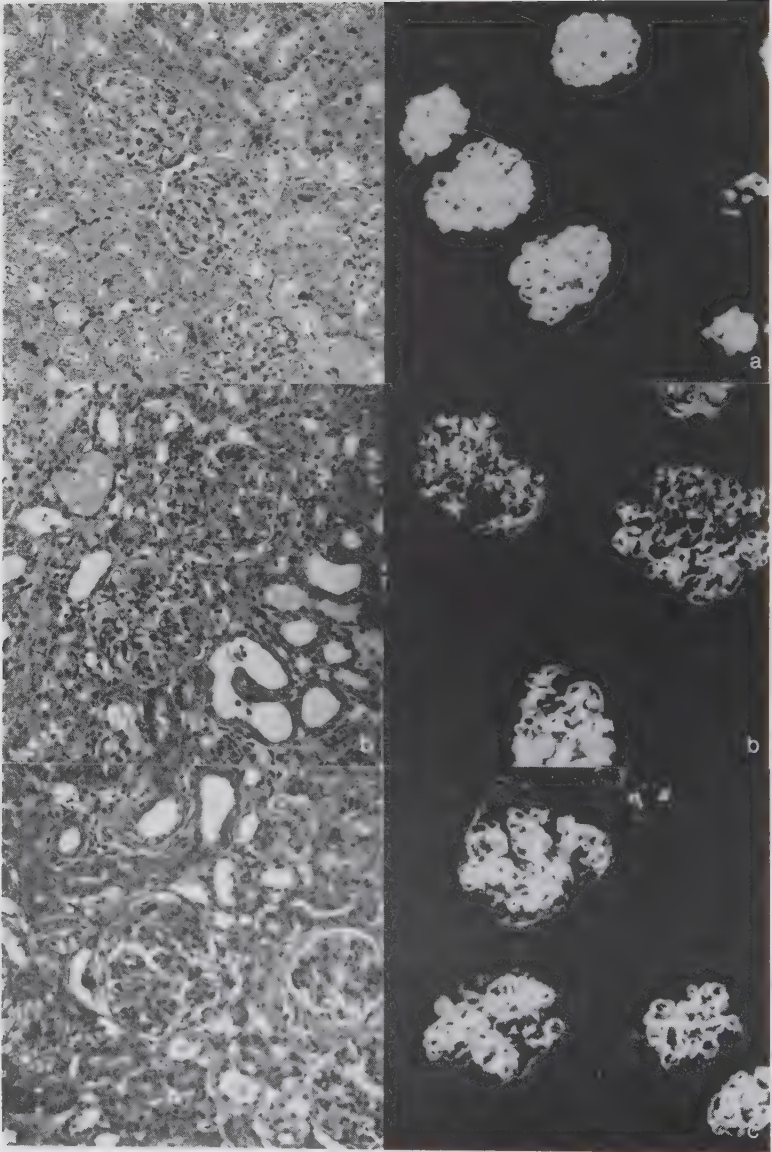
Microfilgefüllte Nieren von Tieren mit Anti-GBM-GN zeigen am 5. Tag in der Übersicht keinen auffälligen Unterschied im Vergleich zur Normalniere. Bei Betrachtung mit stärkerer Vergrößerung lassen sich aber neben normalgefüllten Glomerula einige mit flau oder nur teilweise gefüllten Gefäßschlingen abgrenzen. In ihrer Umgebung erscheinen die Kapillaren nicht klar durchgezeichnet, so daß im Vergleich zum Normalbefund ein etwas ungeordnetes, verwaschenes Bild der Rinde entsteht. Die Darstellung der Markgefäße zeigt keine offensichtlichen Auffälligkeiten. Am 10. Tag findet man bei genauer Betrachtung der Nieren in der Übersicht, daß die kräftigen Punkte in der Rinde als Ausdruck gut gefüllter Glomerula selten geworden sind (Abb. 7a). Stärkere Vergrößerungen bestätigen, daß an den Interlobulararterien nur vereinzelt kräftig gefüllte Glomerula hängen, viele Nierenkörperchen lassen sich aufgrund unvoll-

ständiger Füllung nur schemenhaft darstellen (Abb. 7b,c). Wiederum findet sich im Umfeld betroffener Glomerula ein unklar gezeichnetes, etwas gelichtetes Kapillarnetz, so daß zwischen den Interlobulararterien kleinere schwarze, gefäßarme Zonen entstehen, die den normal dichten, bandförmigen Charakter der Rinde unterbrechen. Markgefäße sind nach wie vor nicht von erkennbaren Änderungen des Füllungszustandes betroffen. Zum 20. Tag hin haben Grad und Ausmaß der beschriebenen Füllungspathologie diskret zugenommen (Abb. 8a,b,c). Erstmals ist auch die Intensität, mit der die Gefäßbündel des Markes gewöhnlich zur Darstellung kommen, etwas verringert. Microfilpräparate vom 30. Tag zeigen die gleichen Befunde wie für den 20. Tag beschrieben.

Insgesamt sind die beobachteten Füllungsdefekte eher als gering einzustufen. Der homogene Charakter der diskret abgeschwächten Füllungen legt nahe, daß alle Glomerula etwa gleich betroffen sind. Es finden sich keine Bilder mit kompletten Lücken, so daß angenommen werden kann, daß keine größeren Bereiche von der Perfusion ausgeschlossen sind.

Histologie

24 Stunden nach Immunisierung, im Zeitraum der heterologen Phase, sieht man in der Übersicht keinen pathologischen Befund, bei Betrachtung mit stärkerer Vergrößerung fallen aber neben unauffälligen Glomerula auch etliche mit segmentalen Schlingennekrosen auf, betroffene Kapillarlichtungen zeigen Blutstasen bzw. Fibrinausfällungen. Eine bevorzugte Lokalisation betroffener Nierenkörperchen läßt sich nicht ausmachen. Der umgebende tubulointerstitielle Raum erscheint unauffällig. 5 Tage später, zu Beginn der autologen Phase, haben Zahl und Umfang beschriebener nekrotischer Kapillarschlingen deutlich zugenommen (Abb. 11a). Daneben treten auch zellreiche Glomerula mit kollabierten Schlingenanteilen auf (Abb. 9a). Keinerlei extraglomeruläre Veränderungen sind erkennbar. Am 10. Tag überwiegen die erwähnten, ausgesprochen zellreichen Glomerula mit kollabierten Schlingenanteilen (Abb. 9b, 11b). Die Zellvermehrung



Anti-GBM-GN-Nieren

Histologie-Übersicht

Abb. 9: a) 5.Tag

b) 10.Tag

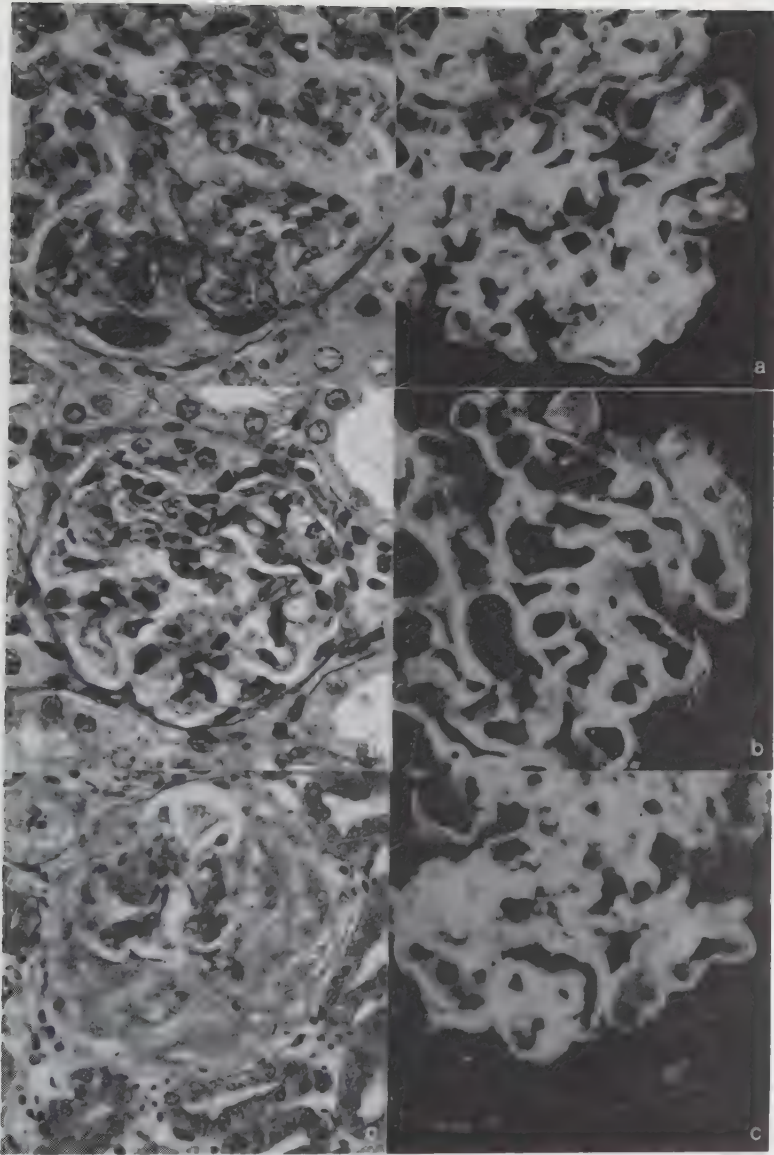
c) 20.Tag

Immunhistologie-Übersicht

Abb. 10: a) 5.Tag

b) 10.Tag

c) 20.Tag



Anti-GBM-GN-Nieren

Histologie-Vergrößerung

Abb. 11: a) 5.Tag
 b) 10.Tag
 c) 20.Tag

Immunhistologie-Vergrößerung

Abb. 12: a) 5.Tag
 b) 10.Tag
 c) 20.Tag

ist in erster Linie auf endokapilläre und mesangiale Proliferation zurückzuführen, daneben werden auch Granulocyten und monocytäre Zellelemente beobachtet. Das Schlingenkonvolut füllt den Bowmanschen Kapselraum vollständig aus. Das Interstitium ist unauffällig. Vom 20. Tag an lassen sich auch extrakapillärproliferative Komponenten als Halbmonde nachweisen, wobei allerdings kollagenes Fasermaterial die Zellen überwiegt (Abb. 9c, 11c). Etwa 30-40% der Glomerula sind betroffen, Größe und Umfang der Halbmonde variieren beträchtlich. Deckepithel und proximale Tubuluszellen zeigen tropfige Eiweißspeicherung, in Harnkanälchen liegen Proteinzylinder. 3 Wochen später ist der Höhepunkt der Erkrankung überschritten, im Glomerulum zeichnet sich eine Zunahme der Segmente mit Kapillarkollaps ab, Übergänge in Verödung mit Adhärenzen zur Kapsel treten auf, die Nierenkörperchen erscheinen deutlich zellärmer. Daneben gewinnen Rundzellinfiltrate an Bedeutung mit vorwiegend perivaskulärer und -glomerulärer, vereinzelt aber auch -tubulärer Lokalisation um atrophische Harnkanälchen mit Lichtungsektasie. Gegenüber dem Befund vom 40. Tag sind die interstitiellen Infiltrate am 60. Tag deutlicher, so daß nun von einer interstitiellen Begleitnephritis gesprochen werden kann. Gefäße zeigen in keiner Phase erkennbare morphologische Veränderungen. Der histologische Befund der Kontrolltiere ist normal.

Immunhistologie

Bereits am 1. Tag nach Immunisierung stellt sich die GBM mit linear gebundenem Kaninchen-IgG aus dem injizierten Antibasalmembranserum immunhistologisch positiv dar. Die Färbung mit Anti-Ratten-IgG fällt noch negativ aus. Erst am 5. Tag, als Antwortreaktion der Ratte den Beginn der autologen Phase kennzeichnend, ist auch Ratten-IgG nachweisbar (Abb. 10a). Die stärkere Vergrößerung zeigt deutlich das für dieses Krankheitsmodellcharakteristische feinlineare Ablagerungsmuster an der GBM (Abb. 12a). Am 10. Tag imponiert in der Übersicht ein ähnliches Bild wie zuvor beschrieben (Abb. 10b). In der Vergrößerung aber erscheint die GBM an zahlreichen Stellen verdickt,

an anderen fragmentiert. Die zarte Darstellung der Membran hat mehr ungeordneten, plumpen Charakter angenommen. Die Kapillaren scheinen in Übereinstimmung mit der Histologie offen (Abb. 12b). 10 Tage später treten die histologisch beschriebenen Halbmonde schemenhaft als unspezifische Färbeprodukte in Erscheinung (Abb. 10c). Wiederum präsentiert sich das Schlingenkonvolut eher plump, d.h. die von der positiven BM umschlossenen Kapillarlumina sind nicht eindeutig abgrenzbar (Abb. 12c). Befunde vom 40. und 60. Tag zeigen keine auffälligen Abweichungen von diesem Bild. Andere Strukturen in der Niere (TBM, Gefäße und Markstrukturen) färben sich zu keinem Zeitpunkt immunhistologisch an. Kontrolltiere zeigen zu jedem Zeitpunkt negative Immunfluoreszenz.

1.1.2. AICN

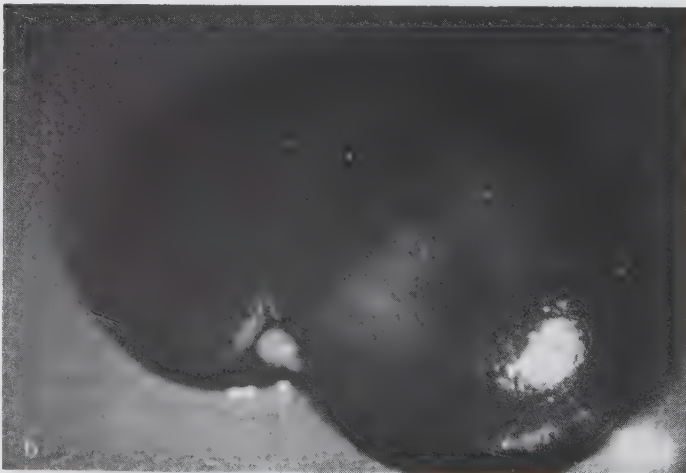
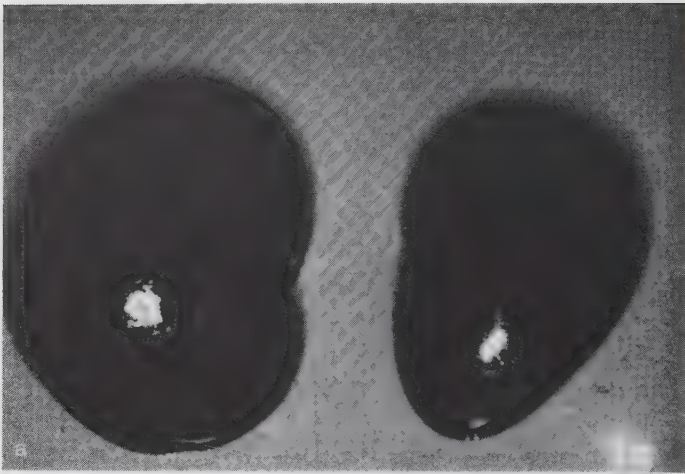
Da die Befunde zu allen Untersuchungszeitpunkten vergleichbar sind, d.h. eine Dynamik des Krankheitsprozesses in dem Beobachtungsintervall nicht festgestellt werden kann, genügt die Darstellung zu einem Zeitpunkt. Hierfür wurde der 20. Beobachtungstag gewählt.

Makroskopischer Befund

Beim Übersichtsvergleich einer pathologischen Niere mit einem normalen Organ fällt nur eine Größenzunahme der betroffenen Niere auf (Abb. 13a). Auch stärkere Vergrößerung läßt keine weiteren pathomorphologischen Veränderungen hervortreten. Die Größenzunahme wird offensichtlich nicht von Farb-, Oberflächen- oder Konsistenzänderungen begleitet (Abb. 13b).

Microfildarstellung

Bei der AICN zeigen mit Microfil gefüllte Nieren weder in der Übersicht (Abb. 14a) noch mit stärkerer Vergrößerung Abweichungen vom normalen Bild. Kräftig gefüllte Glomerula, von



AICN

Makroskopischer Befund: Größenzunahme des erkrankten Organs

Abb. 13: a) links pathologische, rechts gesunde Niere

b) Vergrößerung der pathologischen Niere



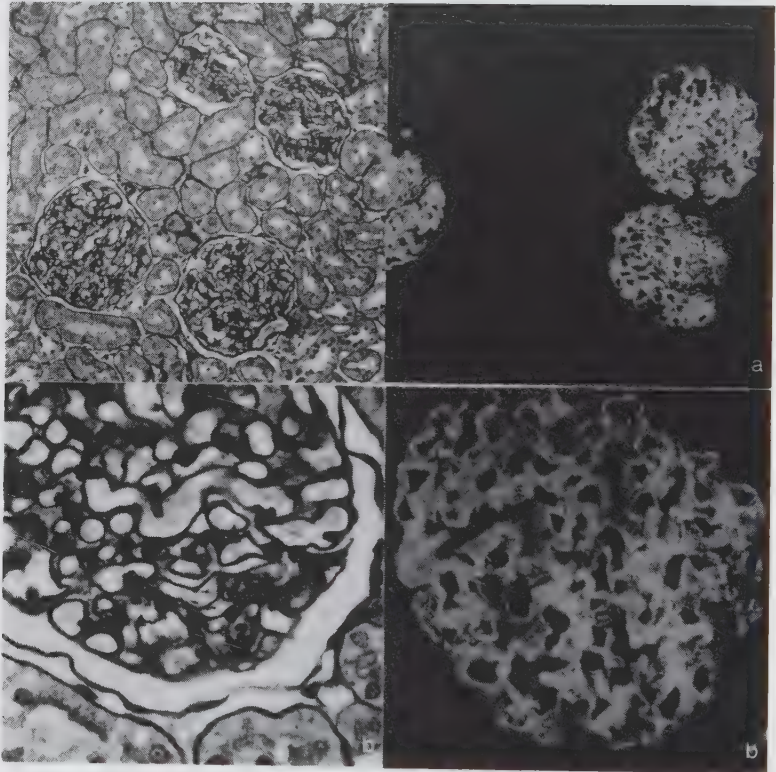
AICN

Microfilbefund: Normale Gefäßdarstellung in Rinde und Mark

Abb. 14: a) Übersicht

b) stärkere

c) Vergrößerungen



AICN

Histologie: Verbreiterung
der GBM

Immunhistologie: Granuläre De-
pots an der GBM

Abb. 15: a) Übersicht
b) Vergrößerung

Abb. 16: a) Übersicht
b) Vergrößerung

unauffälligen Gefäßen versorgt, liegen in dem dichten Kapillarnetz der Rinde, dichte absteigende Gefäßbündel prägen die Darstellung des Marks (Abb. 14b,c).

Histologie

Bereits die Übersicht zeigt das Bild einer perimembranösen GN (Abb. 15a). Glomerula mit normalem Zellgehalt aber Betonung der kapillären BM liegen in einem morphologisch unauffälligen Tubulussystem. Das Interstitium zeigt keine Veränderungen. Bei stärkerer Vergrößerung treten die pathologischen Veränderungen in den Glomerula deutlicher hervor. Normaler Zellgehalt ohne Hinweise auf Proliferation begleitet die verbreitert erscheinende kapilläre BM (Abb. 15b). Protuberanzen als BM-Ausläufer lassen sich in dieser Vergrößerungsstufe und Färbung nicht eindeutig abgrenzen. Gefäße und Markstrukturen sind stets unauffällig. Kontrollen zeigen durchweg normale histologische Befunde.

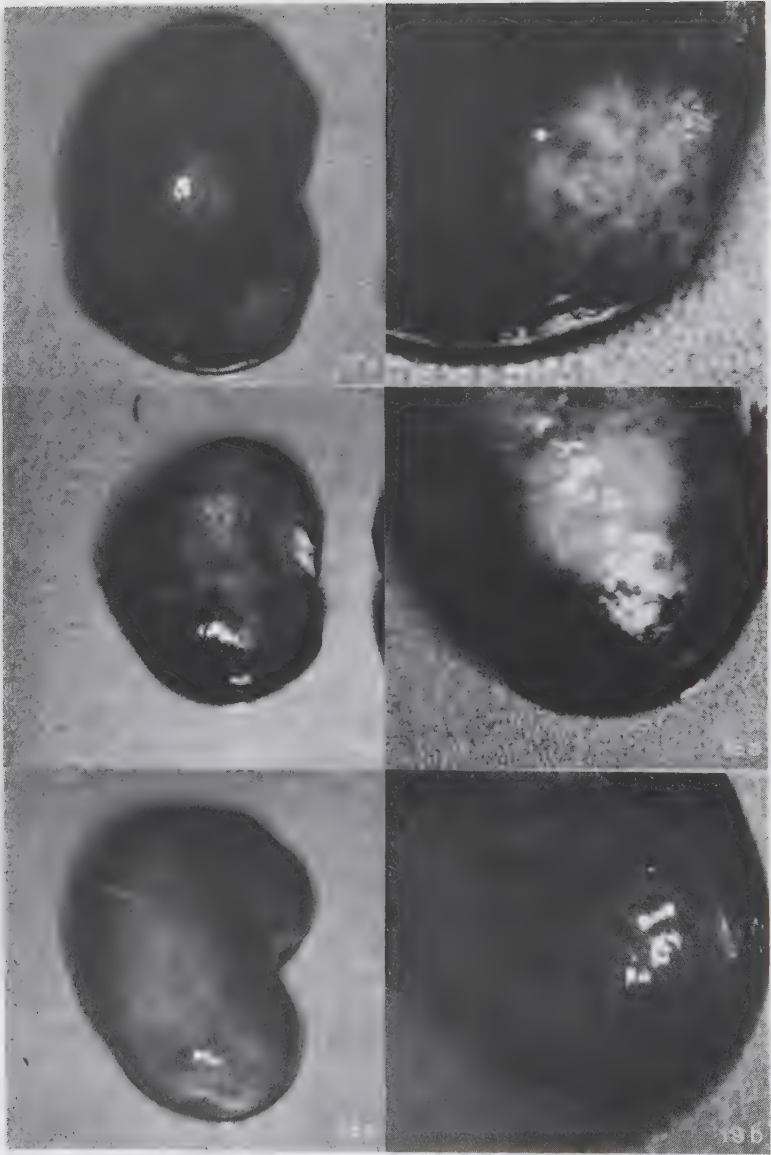
Immunhistologie

Starke Fluoreszenz hebt die Glomerula im immunhistologischen Bild von den übrigen, negativen Strukturen ab (Abb. 16a). Die Vergrößerung demonstriert deutlich ein typisch granuläres Ablagerungsmuster von Ak an der glomerulären Kapillarwand, hervorgerufen durch Immunkomplexe (Abb. 16b), und unterscheidet sich darin von dem linearen Bindungstyp von AK an der GBM im zuvor beschriebenen Modell.

1.2. TIN

Makroskopischer Befund

Bei der makroskopischen Befundung von Nieren 10 Tage nach Immunisierung stellen sich an der Oberfläche einzelne, unterschiedlich große, graugelbe, erhabene Herde dar. Ohne bevorzugte Lokalisation zeigen sie eine unregelmäßige Verteilung



TIN: Makroskopische Nierenbefunde

Abb. 17: a/b 10.Tag

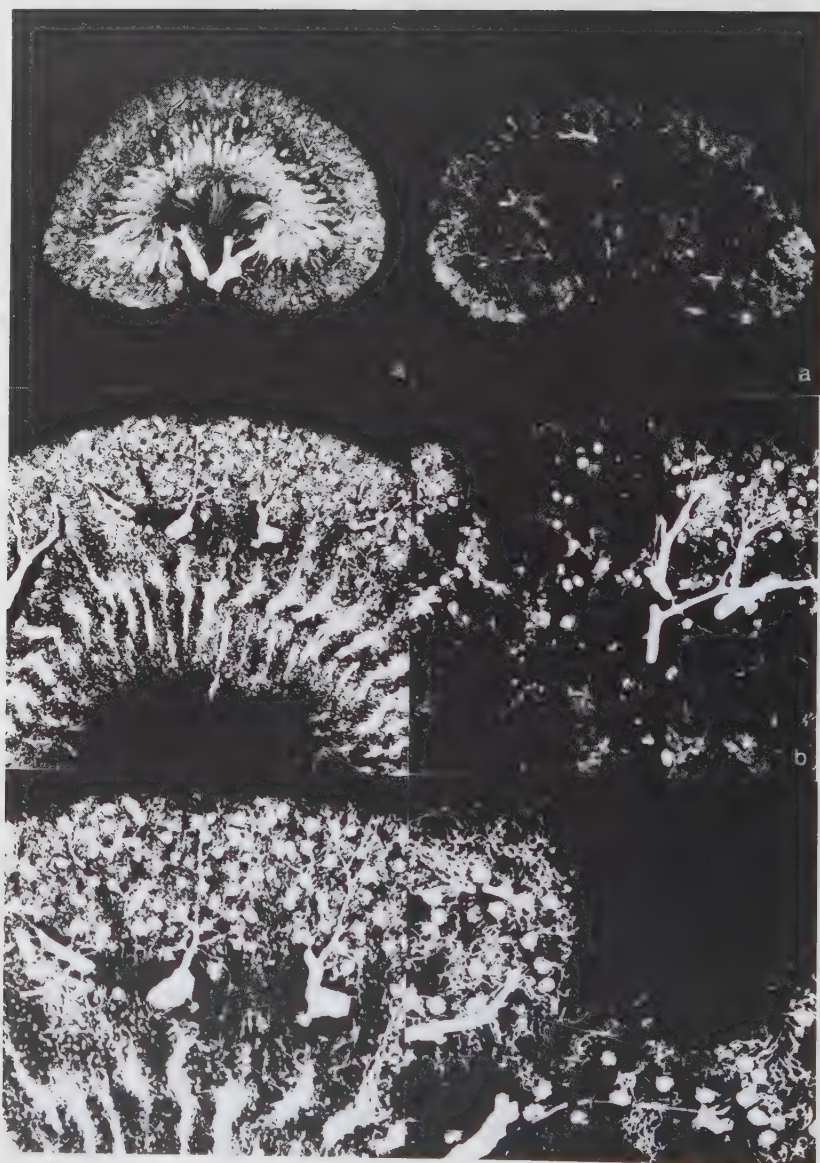
Abb. 18: a/b 20.Tag

Abb. 19: a/b 40.Tag

(Abb. 17a,b). Vereinzelt treten subkapsuläre Hämorrhagien auf. In sehr kurzer Folge nehmen Zahl und Größe der Veränderungen zu, womit in der Regel der herdförmige Charakter verloren geht. Am 20. Tag entnommene Nieren zeigen deshalb meistens flächenhaft-ausgebreitete, konfluierende Veränderungen (Abb. 18a,b). Häufig werden Adhäsionen mit der Nierenkapsel gefunden. Im Vergleich zur Normalniere ist das Organ am 40. Tag noch erheblich vergrößert und von weicher teigiger Konsistenz. Dieser in Abb. 19a,b gezeigte Zustand findet sich im wesentlichen auch gegen Ende des Beobachtungszeitraums, wobei ein grobbuckliges Bild der Oberfläche vorliegen kann.

Microfildarstellung

10 Tage nach Immunisierung zeigt bereits die Übersicht im Vergleich zu gesunden Nieren einen hochgradigen Unterschied im Füllungsmuster. Das normal homogen-dichte Rindenband (Abb. 21a,b,c) wird von Bereichen unterbrochen, in denen wenig oder keine Gefäße mehr zur Darstellung kommen (Abb. 22a). Etwa 30-50% der Rindenfläche ist von Veränderungen dieser Art betroffen. Die einzelnen Herde reichen fast durchweg bis zur Mark-Rinden-Grenze (Abb. 22a). Die für das Mark charakteristischen, strahlenförmig auf die Papille zulaufenden, dichten Gefäßbündel (vgl. Abb. 21) sind nur ansatzweise erkennbar. Ausschnittsvergrößerungen definieren Ort und Charakter der Minderfüllung näher: Gut gefüllte Rindenbereiche enden abrupt, ein Gebiet schließt sich an, in dem vereinzelt das ein oder andere Glomerulum umsäumt von wenigen Kapillaren liegt (Abb. 22b), oft aber überhaupt kein Gefäß mehr zur Darstellung gebracht werden kann (Abb. 22c). Aa. interlobulares brechen häufig an der Grenze zu den beschriebenen Gebieten ab oder können in ihrer ganzen Länge nicht mehr gefüllt werden. Die einzelnen Gefäßbündel des Marks sind sehr spärlich dargestellt. Dieser bereits massive Befund erfährt bis zum 15. Tag nochmals eine Steigerung: Der äußere Rindensaum ist mantelförmig komplett ungefüllt. Nur noch in tieferen Rindenabschnitten lassen sich vereinzelt ein paar Glomerula als weiße Punkte darstellen



Microfildarstellung

Normalniere

Abb. 21: a) Übersicht

b) stärkere

c) Vergrößerungen

TIN-Niere 10. Tag

Abb. 22: a) Übersicht

b) stärkere

c) Vergrößerungen



Microfildarstellung

TIN-Niere 15. Tag

Abb. 23: a) Übersicht

b) stärkere

c) Vergrößerungen

TIN-Niere 20. Tag

Abb. 24: a) Übersicht

b) stärkere

c) Vergrößerungen

(Abb. 23a). In der Übersicht sind keine Markgefäße zu erkennen. Ausschnittsvergrößerungen verdeutlichen, daß die subkapsulären Glomerula mit ihrem dichten Kapillargeflecht direkt unter der Nierenoberfläche überhaupt nicht mehr zur Darstellung kommen. Nur in tieferen Rindenabschnitten liegen verloren ein paar gefüllte Nierenkörperchen, manchmal noch von einzelnen Kapillaren umgeben (Abb. 23b,c). Größere Gefäße wie Aa. arcuatae oder Aa. interlobulares lassen sich nicht darstellen. Von den dichten Gefäßbündeln des Marks liegen nur kurze fadenförmige Fragmente als spärlicher Rest vor (Abb. 23b). Am 20. Tag ist der Höhepunkt des Prozesses überschritten. In der Übersicht zeigt die Niere ein ähnliches Bild wie am 10. Tag. Es bleibt der erwähnte, mantelartige, komplette Füllungsdefekt äußerer Rindenanteile, der sich in umschriebenen Abschnitten bis zur Mark-Rinden-Grenze ausdehnt (Abb. 24a). Der Rest der Niere erscheint besser, aber in keinem Abschnitt normal gefüllt, die Markgefäße sind angedeutet (Abb. 24a). Bei stärkerer Vergrößerung sieht man meist isoliert stehende Glomerula in tiefen Rindenanteilen. Sie sind, wenn überhaupt, nur von dünnem Kapillargeflecht umgeben (Abb. 24b,c). Ab und zu ist eine zuführende A. arcuata oder eine A. interlobularis dargestellt. Die Gefäßbündel des Markes sind spärlich erhalten. Füllungsbilder vom 30. Tag zeigen keine erkennbaren Unterschiede.

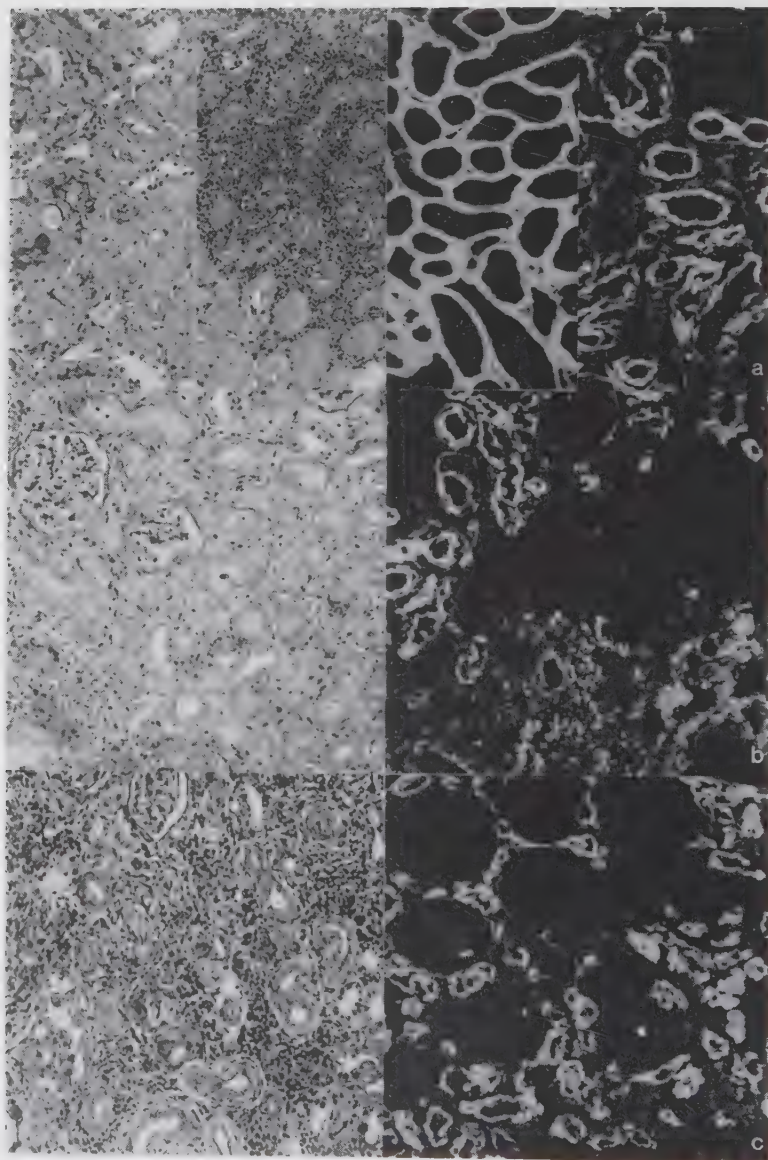
Histologie

Die Übersichtsvergrößerung von Präparaten am 10. Tag zeigt ausgeprägte, herdförmige Zellinfiltrationen bevorzugt im äußeren Rindendrittel, daneben bestehen aber größere Parenchymabschnitte ohne Veränderungen (Abb. 25a). Die betroffenen Bereiche entsprechen den makroskopischen Herden. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man in den interstitiellen Infiltraten überwiegend segmentkernige Granulocyten (Abb. 27a). Tubuluszellen sind mit Vakuolisierung des Cytoplasma und pyknotischen Zellkernen degenerativ verändert. Vereinzelt lassen sich auch intratubulär Entzündungszellen nachweisen. Durch die Infiltrate

ist der interstitielle Raum erheblich verbreitert (Abb. 27a). Glomerula und Nierenmark sind nach lichtmikroskopischen Kriterien nicht am Entzündungsgeschehen beteiligt. 10 Tage später ist das granulomatöse Folgestadium voll ausgebildet. In Übereinstimmung zu den makroskopischen Befunden hat der Entzündungsprozeß mehr flächenhaften Charakter angenommen und betrifft bereits weite Teile des oberflächennahen Rindenabschnitts. Die Granulocyten sind Zellen gewichen, die um zugrunde gegangene Tubuli granulomartige Formationen bilden (Abb. 25b). In der Nähe zerstörter Tubuli finden sich teilweise mehrkernige Riesenzellen vom Langhantyp (Abb. 27b). Von den Harnkanälchen ist häufig nur die stark deformierte und verdickte BM übriggeblieben. In Präparaten vom 40. Tag haben lympho-plasma-histiocytäre Infiltratzellen das granulomatöse Bild abgelöst (Abb. 25c). Die Tubulusatrophie tritt deutlich hervor, ein Teil der Glomerula liegt eng zusammengedrückt direkt an der Oberfläche, so daß auf einen echten Tubulusschwund geschlossen werden kann (Abb. 27c). Am letzten Zeitpunkt unserer Dokumentation, dem 60. Tag, findet sich ein ähnliches Bild wie 3 Wochen zuvor. Infiltrate treten allerdings merklich in den Hintergrund und Fibrosierungsprozesse im Interstitium gewinnen an Bedeutung. Vereinzelt werden Glomerula mit sklerosierter Bowmanscher Kapsel angetroffen. Kontrolltiere zeigen keine histologischen Auffälligkeiten.

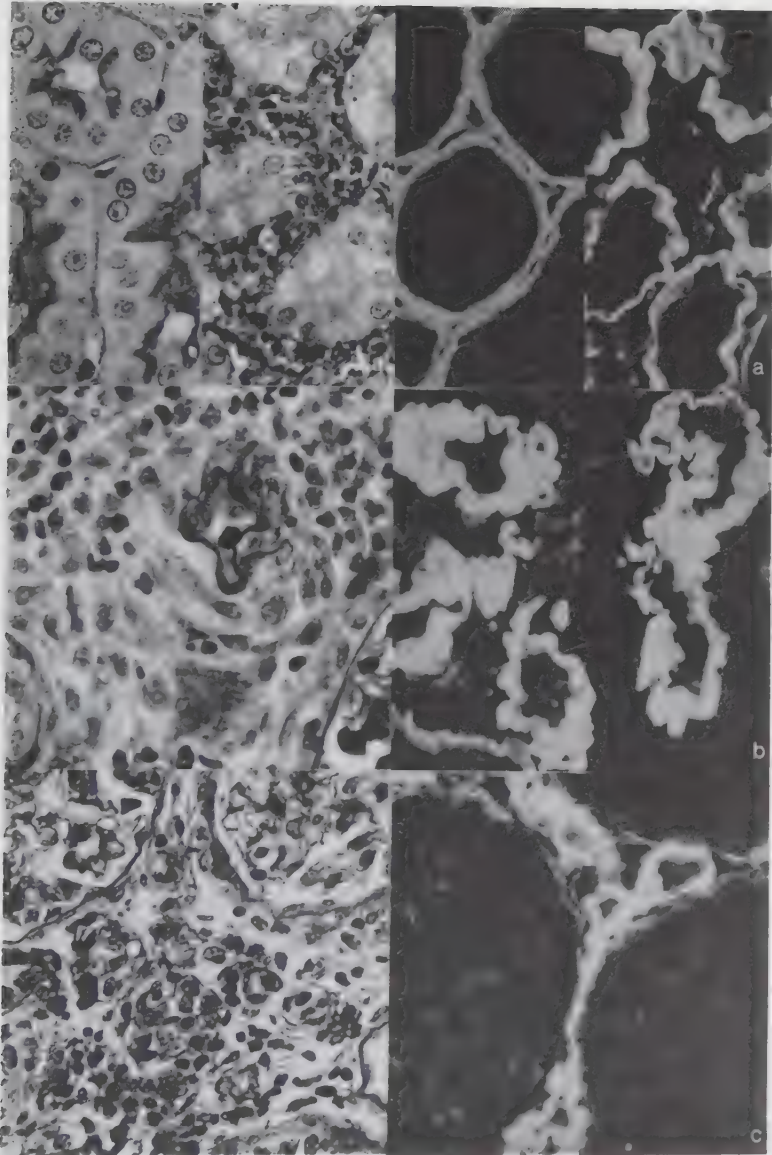
Immunhistologie

Die Erkrankung ist immunhistologisch charakterisiert durch lineare Bindung von Ak an der BM proximaler Tubuli der Nierenrinde. Die Ak lassen sich nach ihrem Auftreten in dieser Form über den gesamten Beobachtungszeitraum anfärben. Glomerula bleiben stets ausgespart. Zu keinem Zeitpunkt werden GBM oder Bowmansche Kapsel positiv dargestellt, ebenso wenig Gefäße oder Markstrukturen. Die Grenze zwischen angefärbten Tubuli der Rinde und negativem Mark verläuft scharf. Parallel zu den beschriebenen makroskopischen, histologischen und Microfilbefunden lassen sich an Nieren vom 10. Tag auch immu-



TIN: Histologie-Übersicht
 Abb. 25: a) 10.Tag
 b) 20.Tag
 c) 40.Tag

TIN: Immunhistologie-Übersicht
 Abb. 26: a) 10.Tag
 b) 20.Tag
 c) 40.Tag



TIN: Histologie-Vergrößerung
 Abb. 27: a) 10.Tag
 b) 20.Tag
 c) 40.Tag

TIN: IF-Vergrößerung
 Abb. 28: a) 10.Tag
 b) 20.Tag
 c) 40.Tag

histologisch zwei unterschiedliche Bereiche abgrenzen. Vom Entzündungsprozeß ausgesparte Regionen zeigen bei erhaltener Struktur kräftig linear angefärbte TBM. Die einzelnen Harnkanälchen liegen dicht aneinander, der interstitielle Raum ist klein (Abb. 26a,28a). Dieses homogene, geordnete Bild ist in herdförmigen Entzündungsarealen vollständig verloren gegangen. Die einzelnen Tubuli präsentieren sich in ihrer Form verändert und weit auseinandergedrängt. Die linear angefärbte TBM verläuft geschlängelt mit einzelnen Kontinuitätsunterbrechungen, das Interstitium ist verbreitert (Abb. 26a,28a). Am 20. Tag sind derartige Herde weiter ausgedehnt. Neben Abschnitten, in denen Tubulusreste mit geschlängelter BM dicht nebeneinander stehen, finden sich Bereiche, in denen Kanälchen praktisch nicht mehr erkennbar sind, die gegenüber Glomerula aber durch eine bedeutend stärkere Hintergrundfluoreszenz imponieren (Abb. 26b). BM-Konturen stellen sich verbreitert und stark gefältelt dar (Abb. 28b). Am 40. und 60. Tag werden weitgehend identische Bilder gefunden. Zwischen dicht gepackten Glomerula finden sich Tubulusreste, die an den komprimierten BM erkennbar sind (Abb. 26c,28c). IF bei Kontrollen war stets negativ.

2. Untersuchungen der Nierenfunktion

2.1. Methodenvergleich zur Bestimmung der GFR

An 5 Normaltieren wurde die GFR konventionell bei konstanten Blutdruckwerten um 120mm Hg aus Harnflußrate und Verhältnis Urin/Plasmakonzentration von ^{51}Cr -EDTA berechnet und mit den Werten einer zweiten Gruppe von 15 Normaltieren verglichen, für die die GFR mit einer nicht-invasiven nuklearmedizinischen Sondenmessung ermittelt wurde.

Das Ergebnis in Mittelwerten mit Standardabweichung zeigt Tab. 2.

Konventionelle GFR-Bestimmung	GFR-Berechnung aus der ^{51}Cr -EDTA Ganzkörperabkling- kurve
(5 Tiere)	(15 Tiere)
$0,552 \pm 0,04$	$0,515 \pm 0,08$
(ml/min/100g KG)	(ml/min/100g KG)

Tab. 2: Ergebnis des Methodenvergleichs

Der Vergleich der Einzeldaten beider Gruppen mit einem Wilcoxon-Rang-Test für ungepaarte Stichproben zeigt keinen Unterschied zwischen den Werten aus beiden Versuchen.

2.2. Die Nierenfunktion bei den Krankheitsmodellen

2.2.1. Glomeruläre Erkrankungen

2.2.1.1. Anti-GBM-GN

Clearanceuntersuchungen

ERPF

Einen Tag nach der Immunisierung liegt die ^{131}J -Hippuran-Clearance (Abb. 29) bei Versuchs- und Kontrolltieren bei 70-80% des Ausgangswertes. Dieses Niveau wird über den

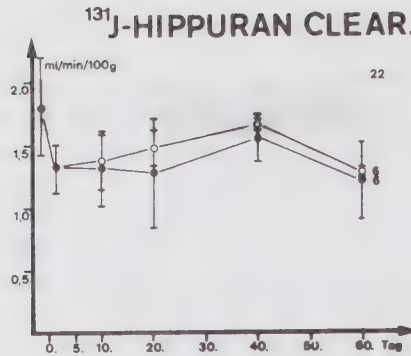


Abb. 29: Anti-GBM-GN

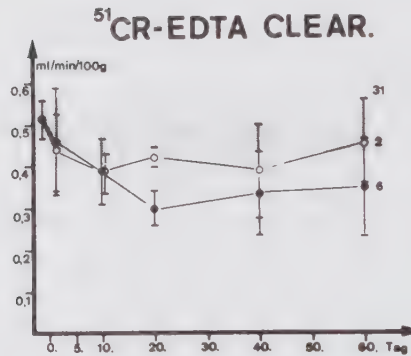


Abb. 30: Anti-GBM-GN

- Abbildungen: - Angaben erfolgen in Mittelwerten $\pm$ Standardabweichung
- Tierzahlen sind im Anschluß an den letzten Meßwert vermerkt
- Punkte = Versuchstiergruppe
- Kreise = Kontrollen
- Raster = Normalbereich unbehandelter Tiere
(Fläche $\hat{=}$ Mittelwert $\pm$ Standardabw.)

HARNSTOFF

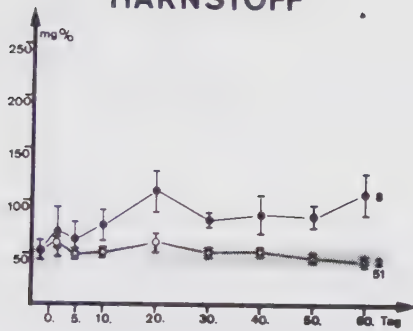


Abb. 31: Anti-GBM-GN

KREATININ

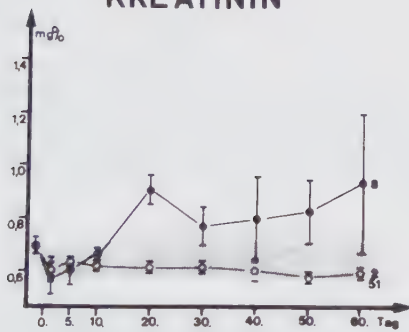


Abb. 32: Anti-GBM-GN

gesamten Beobachtungszeitraum eingehalten. Zu keinem Zeitpunkt bestehen zwischen erkrankten Tieren und Kontrollen signifikante Unterschiede. Nur am 20. Untersuchungstag fällt für die Versuchstiergruppe eine breite Streuung um den Mittelwert auf, für einzelne Tiere beträgt der ERPF an diesem Tag ca. 60% des Normalwertes.

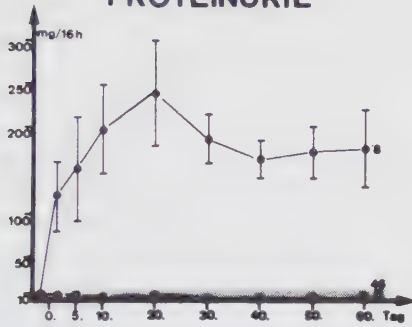
GFR

Nach Werten im unteren Normbereich 24 Stunden nach Immunisierung zeigt die ^{51}Cr -EDTA-Clearance (Abb. 30) erstmals am 10. Tag einen ähnlichen Abfall wie für den ERPF beschrieben auf etwa 80% des Ausgangsniveaus. Wiederum sind Versuchs- und Kontrolltiere in gleichem Umfang betroffen. Ein Unterschied zwischen beiden Gruppen zeichnet sich erst am 20. Tag ab, die GFR erkrankter Tiere ist im Mittel auf 60% abgefallen, Kontrollen schwanken weiterhin um 80%. Aufgrund der geringen Anzahl von Kontrolltieren (2 Stück) kann der Unterschied zwischen den Werten nicht statistisch gesichert werden, ist aber wahrscheinlich. Im weiteren Verlauf pendelt sich die GFR im Mittel bei 70% des Normalwerts ein, bei Kontrollen die auf einem Niveau um 80% bleiben. Auch zu diesen Zeitpunkten können jedoch keine statistisch gesicherten Unterschiede festgestellt werden.

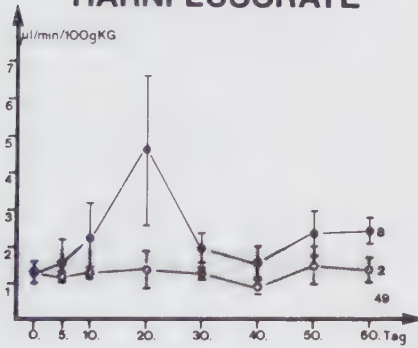
Serumretentionswerte

Bei Versuchstieren ist der Harnstoff (Abb. 31) einen Tag nach Immunisierung leicht von 50mg% auf 70mg% im Mittel angestiegen. Dem höchsten Wert am 20. Tag mit 110mg% folgen im weiteren Verlauf Bestimmungen um 80mg%. Am Ende des Beobachtungszeitraums findet sich nochmals ein leichter Anstieg auf das Niveau des 20. Tages. Die Kreatininwerte zeigen einen ähnlichen Verlauf (Abb. 32). Der erste pathologische und zugleich höchste Wert wird mit 0,9mg% am 20. Tag bestimmt. In der Folgezeit liegen die Mittelwerte bei 0,8mg%; ähnlich wie beim Harnstoff ist auch für Kreatinin ein vergleichsweise hoher Wert am 60. Tag festzustellen. Mit allen erhöhten Werten unterscheiden sich die Ver-

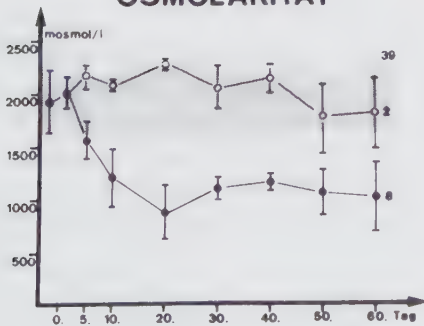
PROTEINURIE



HARNFLUSSRATE



OSMOLARITÄT



Anti-GBM-GN: Urinparameter

Abb. 33: Proteinurie

Abb. 34: Harnflußrate

Abb. 35: Osmolarität

suchstiere signifikant von Normaltieren. Kontrollen liegen im Normbereich.

Urinparameter

Proteinurie

Bereits 24 Stunden nach Injektion des Antibasalmembranserum wird, als Ausdruck erfolgreicher Immunisierung, mit Werten um 120mg/16h eine ausgeprägte Proteinurie (Abb. 33) festgestellt. In der Folge steigt die Eiweißausscheidung im Urin kontinuierlich an und hat sich am 20. Tag mit Werten um 250mg/16h gegenüber dem ersten Tag verdoppelt. Spätere Bestimmungen bis zum Versuchsende schwanken um 180mg/16h. Kontrollen zeigen keine pathologische Proteinurie.

Harnflußrate

Die Harnflußrate (Abb. 34) ist erstmals am 10. Tag leicht von 1,4 μ l/min/100g KG auf 2,2 μ l/min/100g KG erhöht. Dem sprunghaften Anstieg auf 4,7 μ l/min/100g KG, etwa das 3,5-fache des Ausgangswertes, am 20. Tag, folgt anschließend ein Abfall in den Normalbereich. Erst gegen Ende des Beobachtungszeitraums treten nochmals leicht aber signifikant erhöhte Werte etwa auf dem Niveau des 10. Tages auf. Die Kontrolltiere liegen mit ihren Werten immer im Normalbereich.

Harnosmolarität

Die Harnosmolarität (Abb. 35) zeigt erwartungsgemäß ein zur Harnflußrate gegensinniges Verhalten. Bis zum 20. Tag nimmt sie fortlaufend ab und erreicht mit 900mosmol/l ihren niedrigsten Wert. Folgebestimmungen schwanken um 1100mosmol/l. Die Werte für Kontrolltiere liegen stets im Normbereich. Die Unterschiede zwischen Versuchs- und Normaltieren sind statistisch signifikant.

2.2.1.2. AICN

Clearanceuntersuchungen

Sowohl die ¹³¹J-Hippuran Clearance als Maß für den ERPF als

auch die ^{51}Cr -EDTA Clearance zur Bestimmung der GFR weichen bei Versuchstieren zu keinem Zeitpunkt von den ermittelten Normalwerten ab. (vgl. Tab. 3).

Serumretentionswerte

Auch die Harnstoff- und Kreatininwerte erkrankter Tiere entsprechen im Verlauf den Normalwerten (s. Tab. 3).

Uninparameter

Der einzige Hinweis auf eine Funktionsstörung der Nieren wird in der mittel- bis hochgradigen Proteinurie der Versuchstiere gefunden. Sie beginnt ca. 6 bis 10 Wochen nach Immunisierung und steigt über längere Zeit an. Während des Beobachtungszeitraums liegt die Eiweißausscheidung ohne größere Schwankungen im Mittel bei 160mg/16h, wobei zwischen einzelnen Tieren große Unterschiede bestehen (50mg/16h – 300mg/16h).

Harnflußrate und Osmolarität zeigen normale Werte.

Die Mittelwerte am 20. Tag des Beobachtungsintervalls werden als repräsentativ herausgegriffen und in Tab. 3 zusammen mit den Normalwerten aufgeführt:

	AICN	Normalwerte
^{131}J -Hippuran Clearance (ml/min/100g KG)	(5) $1,78 \pm 0,22$	(22) $1,82 \pm 0,22$
^{51}Cr -EDTA Clearance (ml/min/100g KG)	(8) $0,51 \pm 0,07$	(31) $0,51 \pm 0,08$
Harnstoff (mg%)	(11) 42 ± 9	(51) 49 ± 18
Kreatinin (mg%)	(11) $0,56 \pm 0,05$	(51) $0,64 \pm 0,06$
Proteinurie (mg/16h)	(11) 160 ± 100	(46) $7,7 \pm 2,2$
Harnflußrate ($\mu\text{l}/\text{min}/100\text{gKG}$)	(11) $1,2 \pm 0,2$	(49) $1,4 \pm 0,6$
Osmolarität (mosmol/l)	(11) 1800 ± 350	(39) 1970 ± 340

(.) = Anzahl der Tiere

2.2.2. TIN

Clearanceuntersuchungen

ERPF

10 Tage nach Immunisierung ist die ^{131}J -Hippuran Clearance bei Versuchstieren stark abgefallen, wobei mit Werten um $0,4\text{ml/min}/100\text{g KG}$ nur ca. 20% des Ausgangsniveaus erreicht werden (Abb. 36). Ein ähnliches Ergebnis gilt für den 20. Tag. Nach einer leichten Besserung am 40. Tag stabilisiert sich die Clearance gegen Ende der Versuchsdauer bei Werten von $0,7\text{ml/min}/100\text{g KG}$ und damit bei knapp 40% des normalen Niveaus. Clearanceangaben für Adjuvanskontrollen schwanken über den gesamten Beobachtungszeitraum zwischen 70% und 80% des Ausgangswerts. Der Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe ist zu jedem Zeitpunkt statistisch signifikant.

GFR

Mit der Abnahme des ERPF fällt in gleicher Weise die ^{51}Cr -EDTA Clearance (Abb. 37) ab. Während Adjuvanskontrollen über die gesamte Dauer um Werte bei $0,4\text{ml/min}/100\text{g KG}$ schwanken und damit bei ca. 80% des Ausgangsniveaus liegen, fällt die Clearance der Versuchstiere am 10. Tag auf 25% des normalen Werts und erreicht am 20. Tag mit 20% ihren tiefsten Punkt. Ähnlich der ^{131}J -Hippuran Clearance zeigen Folgebestimmungen einen leichten Anstieg der Werte auf ca. 30%. Alle Ergebnisse der Versuchstiere unterscheiden sich zu jedem Zeitpunkt signifikant von Normalbefunden.

Serumretentionswerte

Parallel mit dem Abfall der GFR steigen die Serumretentionswerte an. Harnstoff (Abb. 38) hat sich mit $110\text{mg}\%$ bei Versuchstieren am 10. Tag bereits verdoppelt und erreicht 5 Tage später mit einem Wert um $190\text{mg}\%$ sein Maximum. Alle folgenden Bestimmungen schwanken zwischen $110\text{mg}\%$ und $120\text{mg}\%$. Kreatininwerte (Abb. 39) zeigen einen ähnlichen Verlauf. Dem deutlichen Anstieg

auf 0,9mg% bei Normalwerten um 0,6mg% folgt am 15. Tag mit 1,25mg% das höchste Messergebnis, bevor sich die Werte im weiteren Verlauf bei 1,0mg% einpendeln. Die Ergebnisse für Adjuvanskontrollen liegen stets im Normbereich. Die Unterschiede beider Parameter zwischen Versuchs- und Kontrolltieren sind statistisch zu jedem Zeitpunkt signifikant.

Uninparameter

Proteinurie

Mit einer Proteinurie (Abb. 40), die nach dem 20. Tag konstant über 10mg/16h liegt, besteht eine geringe, jedoch signifikante Erhöhung der Eiweißausscheidung im Vergleich zum Normalen (7,7mg/16h).

Harnflußrate

Die Harnflußrate (Abb. 41) der Versuchstiere ist bereits am 10. Tag nach Immunisierung mit 3,6µl/min/100g KG auf das 2,5-fache der Norm angestiegen und erreicht mit 7,4µl/min/100gKG am 15. Tag ihren höchsten Stand. Anschließend gehen die Werte bis zum 30. Tag stetig zurück und stabilisieren sich im weiteren Verlauf bei ca. 2,5µl/min/100g KG.

Osmolarität

Die Osmolarität (Abb. 42) verhält sich gegensinnig zu der Harnflußrate. Ausgehend von 2000mosmol/l sinkt der Wert bei den Versuchstieren bis zum 10. Tag im Mittel um 50% auf 1000mosmol/l ab. Bestimmungen am 15. Tag zeigen mit 750mosmol/l die niedrigsten Ergebnisse. Gegen Ende der Versuchsdauer erholt sich das Konzentrationsvermögen leicht, die Messwerte schwanken um 1100mosmol/l. Mit Adjuvantien behandelte Kontrollen zeigen in der ersten Phase nach Immunisierung ebenfalls eine geringe Verminderung der Harnosmolarität, eine Normalisierung tritt um den 40. Tag ein. Der Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe ist jedoch zu jedem Zeitpunkt signifikant.

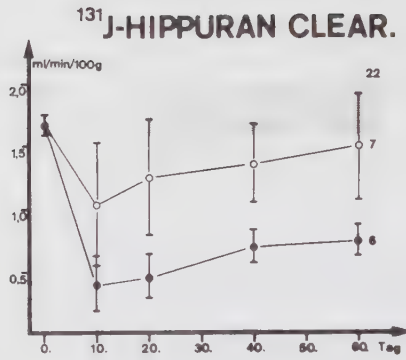


Abb. 36: TIN

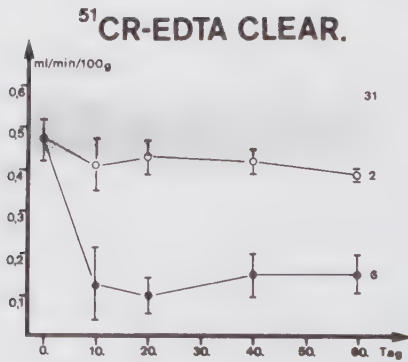


Abb. 37: TIN

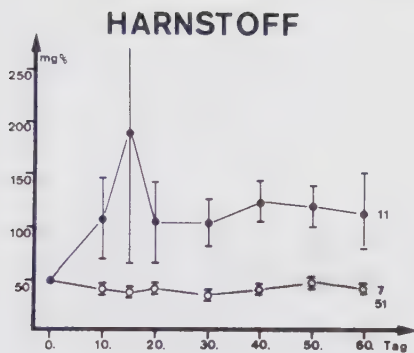


Abb. 38: TIN

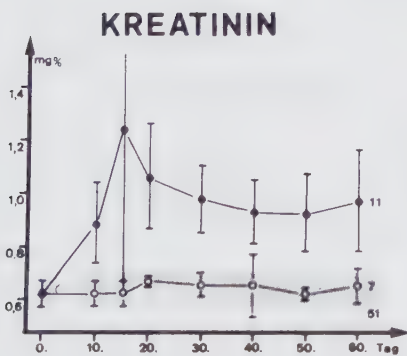
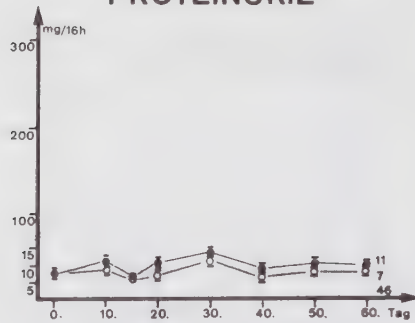
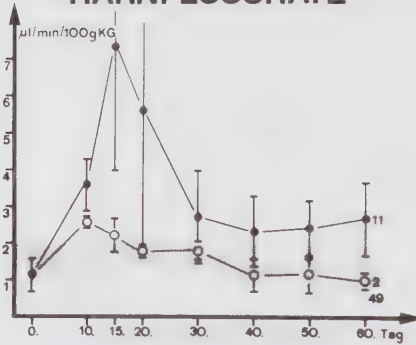


Abb. 39: TIN

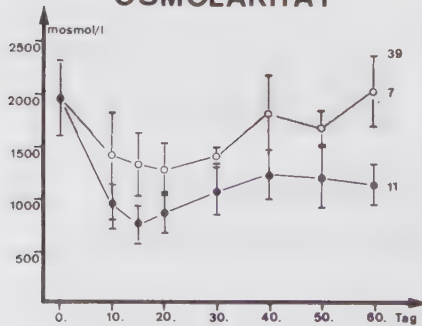
PROTEINURIE



HARNFLUSSRATE



OSMOLARITÄT



TIN: Urinparameter Abb. 40: Proteinurie
 Abb. 41: Harnflußrate
 Abb. 42: Osmolarität

3. Gegenüberstellung der untersuchten Krankheitsmodelle

Zum Zeitpunkt der stärksten Krankheitsausprägung - gemessen am renalen Funktionsverlust - werden die glomerulären Erkrankungen der interstitiellen Nephritis gegenübergestellt. Für die AICN und die Anti-GBM-GN werden zu diesem Zweck die Ergebnisse vom 20. Beobachtungstag herangezogen, bei der TIN der am 15. Tag erhobene Befund.

AICN

Bei der AICN beschränkt sich der pathomorphologische Befund auf Veränderungen im Bereich der GBM, die das Krankheitsbild als perimembranöse GN charakterisieren. Subepitheliale IK, immunhistologisch in Form granulärer Ablagerungen nachweisbar, lösen an der GBM Reaktionen aus, die histologisch als Verbreiterung dieser Membran erscheinen und mit einer Permeabilitätssteigerung für Eiweiß einhergehen. Das funktionelle Korrelat dieser morphologischen Veränderungen ist eine mittel- bis hochgradige Proteinurie. Außer dem beschriebenen Befund finden sich bei dieser Erkrankung keine weiteren Auffälligkeiten (s. Tab. 4). Die Glomerula zeigen normalen Zellgehalt, das Schlingenkonvolut scheint frei durchgängig, Harnkanälchen und Interstitium sind nicht erkennbar verändert. Das arterielle Gefäßsystem läßt sich mit kräftig gefüllten Glomerula inmitten des dichten kapillären Rindenlabyrinths und mit kräftigen Gefäßbündeln im Mark normal darstellen. In Übereinstimmung zu den morphologischen Befunden werden für ERPF, GFR mit Serumretentionswerten sowie Harnflußrate und Osmolarität normale Werte gefunden.

Anti-GBM-GN

Die Erkrankung verläuft histologisch als proliferativ-nekrotisierende GN. Die Glomerula imponieren infolge von endokapillärer und mesangialer Proliferation zellreich, Halbmonde treten als Ausdruck der zusätzlichen extrakapillär-proliferativen Komponente

auf. Nierenkörperchen mit kollabierten Schlingenanteilen erscheinen in der Microfildarstellung unvollständig und flau gefüllt. Als funktionelles Korrelat steht diesen Veränderungen nur eine geringfügige Abnahme von ERPF und GFR bei mäßig erhöhten Retentionswerten gegenüber. Bindung von Ak an antigene Strukturen innerhalb der GBM, immunhistologisch durch das typisch-lineare Fluoreszenzmuster gekennzeichnet, leitet die beschriebene Entzündungsreaktion ein und ähnlich wie bei der AICN gehen die Vorgänge an der BM mit einer Erhöhung der Eiweißdurchlässigkeit einher, die sich in einer hochgradigen Proteinurie ausdrückt. Der erhöhten Harnflußrate mit erniedrigter Osmolarität kann mit diskret verringerter Darstellung der Markgefäße nur wenig an pathomorphologischen Befunden entgegengehalten werden. Im Interstitium werden zu diesem Zeitpunkt noch keinerlei erkennbare Veränderungen (z.B. Infiltrat, Ödem Fibrose) vorgefunden (s. Tab. 4). Das postglomeruläre Kapillarnetz in diesem Raum zeigt, als nachgeschaltete Gefäßstrecke von Nierenkörperchen mit mäßiger intraglomerulärer Füllungsbehinderung, leicht rarifizierte Darstellbarkeit mit Microfil. Insgesamt betrachtet wird der auffällige histologische Befund nur von geringen Einschränkungen der Nierenfunktion begleitet.

TIN

Bei morphologisch unauffälligen Glomerula wird das Bild dieser Erkrankung von den tubulointerstitiellen Veränderungen bestimmt (s. Tab. 4). Histologisch finden sich in weiten Rindenbereichen zugrundegegangene Tubuli, sie werden von Infiltratzellen granulomartig umschlossen und liegen zunächst weit auseinandergedrängt. Diesem Entzündungsprozeß geht die lineare Bindung von Ak an die BM proximaler Tubuli voraus, Glomerula und Mark bleiben immunhistologisch negativ. Der interstitielle Raum, teils auf Kosten der Tubuli, teils durch echte Größenzunahme, hat erheblich in seiner Ausdehnung zugenommen und wird nahezu vollständig von zellulären Infiltraten ausgefüllt. In den histologisch besonders betroffenen äußeren Rindenbereichen ist mit Microfil kein Gefäß mehr darstellbar. Tiefere Rindenabschnitte

werden häufig nicht im gleichen Ausmaß von der Entzündung mit erfaßt, zeigen aber dennoch keine wesentlich besseren Füllungszustände: Nur das ein oder andere Glomerulum liegt, nur von wenigen Kapillaren umsäumt, in diesen Räumen. Als funktionelles Korrelat steht der Zunahme des interstitiellen Raums und der stark reduzierten Gefäßdarstellung ein hochgradiger Abfall des ERPF und der GFR mit stark erhöhten Retentionswerten gegenüber. Nekrosen proximaler Harnkanälchen und ungefüllte Markgefäße gehen mit massiv erhöhter Harnflußrate und stark erniedrigter Osmolarität einher. Da keine Hinweise auf eine glomeruläre Schädigung bestehen, läßt sich die diskret erhöhte Proteinurie ursächlich nur dem von der Entzündung erfaßten Tubulussystem zuordnen. Im Vergleich zu den glomerulären Erkrankungen werden bei diesem Krankheitsmodell bei weitem die stärksten renalen Funktionseinschränkungen gefunden.

Tab. 4: Gegenüberstellung der Krankheitsmodelle

<u>Morpholog.</u>	<u>AICN</u>	<u>Anti-GBM-GN</u>	<u>TIN</u>
<u>Makroskopie</u>	Nieren groß	Nieren blass, geschwollen mit granulierter Oberfläche	gelbgraue über die Nierenoberfläche verteilte, konfluierende Herde
<u>Microfil</u>			
Glomerula	o.B.	flau, unvollständig gefüllt	einzelne gefüllte Glomerula
Kapillarnetz	o.B.	flau, ausgedünnt	nicht darstellbar
Markgefäßbündel	o.B.	gering abgeschwächt	nicht darstellbar
<u>Histologie</u>			
Glomerula	verbreiterte GBM	endokap.+mesangiale Prolif. Schlingenkollaps, Halbmonde intratub. Eiweißzyklinder	o.B.
Tubuli	o.B.	o.B.	Tubulusnekrosen, Granulome
Interstitium	o.B.		erhebliche Größenzunahme durch zelluläre Infiltrate

Tab. 4: Gegenüberstellung der Krankheitsmodelle

		<u>AICN</u>	<u>Anti-GBM-GN</u>	<u>TIN</u>
<u>Immunfluoresz.</u>				
Glomerula	granuläre Depots durch IK an der GBM		lineare Fluoreszenz der GBM	o.B.
Tubuli	o.B.		o.B.	lineare Fluoreszenz der TBM
<u>Renale Funktion</u>				
<u>Clearance</u>				
ERPF:	$1,78 \pm 0,22$		$1,32 \pm 0,30$	$0,41 \pm 0,21$
GFR:	$0,51 \pm 0,08$		$0,30 \pm 0,04$	$0,10 \pm 0,03$
(ml/min/100g KG)				
<u>Retentionswerte</u>				
Harnstoff:	42 ± 9		110 ± 20	190 ± 120
Kreatinin:	$0,56 \pm 0,05$		$0,90 \pm 0,05$	$1,24 \pm 0,98$
(mg/100ml)				
<u>Uninparameter</u>				
Proteinurie: *	160 ± 95		260 ± 90	$11,0 \pm 1,6$
Harnflußrate: °	$1,2 \pm 0,2$		$4,7 \pm 2,1$	$7,4 \pm 3,4$
Osmolarität: +	1800 ± 350		900 ± 250	770 ± 170
	* (mg/16h)		° (µl/min/100g KG)	+ (mosmol/l)

V. Diskussion

1. Die Methoden zur Bestimmung der Nierenfunktion

Clearanceuntersuchungen

Ein Anliegen der Arbeit war es, mit nicht-invasiven, am gleichen Tier wiederholbaren Methoden möglichst aussagekräftige Parameter für die Beurteilung der Nierenfunktion zu ermitteln. Unter diesem Gesichtspunkt waren mit Harnstoff und Kreatinin im Serum sowie Proteinausscheidung, Harnflußrate und Osmolarität im Urin einige Parameter leicht zu bestimmen. Daneben sollte aber die Beurteilung der Organfunktion vor allem auf Aussagen zu der renalen Durchblutung und dem Glomerulumfiltrat basieren. Klassische, von Physiologen angewandte, invasive Verfahren zur Messung von RBF und GFR waren in dem Zusammenhang nicht anwendbar, denn in der Regel sind sie mit größeren chirurgischen Eingriffen verbunden, die Wiederholungsbestimmungen am Einzeltier für die Beurteilung von Krankheitsverläufen nicht zulassen. Als nicht-invasive Methode, aber mit ähnlicher Aussagekraft bot sich als Lösung unseres Problems vielmehr eine Clearanceberechnung nach einem nuklearmedizinischen Verfahren an. Mit dem Prinzip der teilabgeschirmten Ganzkörpermessung nach Oberhausen (42) wurde zu diesem Zweck eine am Menschen erprobte Methode auf die Verhältnisse der Ratte übertragen. Als geeignete Substanzen zur Ermittlung von ERPF und GFR wurden ^{131}J -Hippuran und ^{51}Cr -EDTA eingesetzt. Bevor die Methode in den Versuchen zur Anwendung kam, wurde zu ihrer Beurteilung am Beispiel der GFR zuerst ein Vergleich mit einem klassischen Bestimmungsverfahren durchgeführt. Mit $0,52 \pm 0,08 \text{ ml/min/100g KG}$ (15 Tiere; nuklearmedizinisch) und $0,55 \pm 0,04 \text{ ml/min/100g KG}$ (5 Tiere; konventionell) für die GFR an Normaltieren lagen die Daten in guter Übereinstimmung. Im statistischen Vergleich ließ sich zwischen beiden Gruppen kein Unterschied sichern. Das für die Ratte modifizierte, neue, nicht-invasive Verfahren zur GFR-Bestimmung steht damit

der eingesetzten konventionellen Methode gleichwertig gegenüber und rechtfertigt seine Anwendung in den Experimenten. Unser Normalwert für die nuklearmedizinische Methode liegt in sehr guter Übereinstimmung mit Vergleichswerten anderer nuklearmedizinischer Untersuchungen ($0,50 \pm 0,11$ ml/min/100g KG (6); $0,54 \pm 0,16$ ml/min/100g KG (32)). Die Normalwerte der beiden von uns angewandten Methoden liegen an der unteren Grenze des Normbereichs aus der Literatur ($0,6 - 0,9$ ml/min/100g KG; (36,53)). Ein direkter Vergleich mit diesen Werten ist aber nur bedingt zulässig, da in den Versuchen sowohl andere Tierstämme, als auch ein anderes Narkotikum (Inactin) verwendet wurden.

Die Bestimmung des ERPF erfolgte nach dem gleichen Prinzip, aber mit ^{131}J -Hippuran als Clearancesubstanz. Ein zusätzlicher direkter Vergleich mit einer konventionellen Methode wurde nicht mehr als notwendig angesehen. Wie mit PAH kann mit ^{131}J -Hippuran der ERPF bestimmt werden; er entspricht aus bekannten Gründen ca. 90% des gesamten Nierenplasmastroms. Die Untersuchung läßt damit brauchbare Rückschlüsse auf die renale Durchblutungssituation zu. Mit $1,82 \pm 0,22$ ml/min/100g KG liegt unser Normalwert in guter Übereinstimmung mit dem Wert von $2,11 \pm 0,15$ ml/min/100g KG einer vergleichbaren Untersuchung mit ähnlicher Methode (5). Schließt man aus konventionellen Bestimmungen des RBF bei bekanntem Hämatokrit auf den ERPF und vergleicht diesen Wert mit unseren nuklearmedizinischen Ergebnissen, zeigt sich, daß unsere Bestimmungen wiederum an der unteren Grenze liegen, wahrscheinlich aus den gleichen bereits aufgeführten Gründen. Das Verhältnis von GFR/ERPF, ausgedrückt als Filtrationsfraktion, ist mit 0,28 bei nuklearmedizinischen und 0,29 bei konventionellen Verfahren nahezu identisch. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß mit den beiden nuklearmedizinischen Bestimmungen brauchbare, empfindliche, nicht-invasive Methoden zur Beurteilung von Nierendurchblutung und GFR gefunden wurden, die in ihrer Aussagekraft klassischen Methoden vergleichbar sind.

Serumretentionswerte

Bei der Beurteilung der Retentionswerte bestätigte sich, daß im Vergleich zur Clearancemessung das Serumkreatinin ein unempfindlicher Parameter zur Abschätzung der GFR ist. Ähnlich der beim Menschen gefundenen Beziehung konnte an Einzeltieren, bei denen GFR und Kreatininwert gleichzeitig zur Beurteilung vorlagen, gezeigt werden, daß eine meßbare Retention des Serumkreatinins mit Anstieg über den ermittelten Normbereich hinaus erst gefunden wird, wenn die GFR bei Clearanceuntersuchungen bereits auf die Hälfte reduziert ist (Abb. 43). Geringe Einschränkungen der GFR können mit Kreatininbestimmungen nicht erfaßt werden. Die aufgeführten Serumretentionswerte sind deshalb nur als Bestätigung und Ergänzung der wesentlich empfindlicheren Clearancemethoden aufgeführt.

**SERUMKREAT. UND GLOM. FILTRATIONSRATE
BEI EINZELTIEREN ALLER MODELLE**

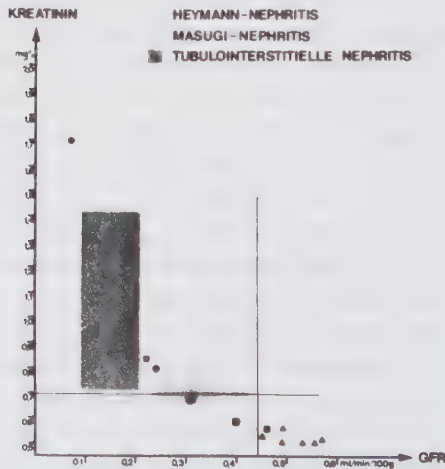


Abb. 43:

Uninparameter

Die Proteinbestimmung mit Biuret im Urin ließ nur die quantitative Erfassung der Eiweißausscheidung zu, eine qualitative Auftrennung des ausgeschiedenen Proteins nach Molekulargewicht mit Differenzierungsmöglichkeit in selektive/unselektive glomeruläre Proteinurie und tubuläre Proteinurie ist mit dieser Methode nicht möglich. Weiterführende Untersuchungen z.B. mit Hilfe der Mikro-Polyacrylamid-Elektrophorese (7) sind notwendig, um typische Ausscheidungsmuster dieser Art zu identifizieren. Harnflußrate und Osmolarität geben nur allgemein Auskunft über das Ausmaß der Resorption und das Konzentrierungsvermögen. Zur Differenzierung möglicher Ursachen und Lokalisation sind weiterführende Untersuchungen (z.B. Mikropunktionsmethoden, isolierte Tubulussegmentperfusion) nötig, die mit unserem Versuchsansatz nicht zu erreichen waren. Mit Aussagen zu absoluter und fraktioneller Resorption sowie der freien Wasserclearance liegen an einzelnen Tieren (Normaltiere und Tiere mit TIN außerhalb der Versuchsreihe) erste Ergebnisse in dieser Richtung vor.

2. Pathophysiologische Erklärungsmöglichkeiten veränderter Nierenfunktion

Der Diskussion der einzelnen Modelle soll kurz eine Zusammenstellung pathophysiologischer Erklärungsmöglichkeiten für die beobachteten Veränderungen der Nierenfunktion vorangestellt werden. Die Aufstellung, die auf die Pathomorphologie der Krankheitsmodelle ausgerichtet ist, beschränkt sich auf die untersuchten Parameter und ihre möglichen Zusammenhänge, kann aber keinen Anspruch auf Vollständigkeit erheben.

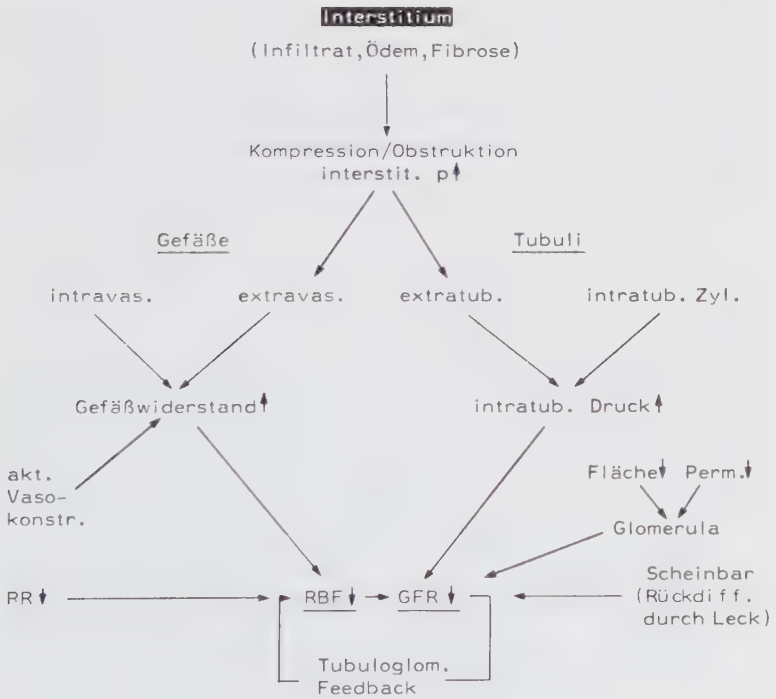
RBF

Ein Abfall der renalen Durchblutung läßt sich allgemein nach dem Ohmschen Gesetz aus der Erhöhung des Strömungswiderstands im Gefäß oder der Abnahme des Blutdrucks ableiten. Für die letztere Möglichkeit liegt kein Hinweis vor, da bei den Messungen keine veränderten Blutdruckwerte festzustellen waren und sie in dem Blutdruckbereich durchgeführt wurden, in dem die renale Durchblutung einer Autoregulation unterliegt. Deshalb kommt als Ursache der verminderten renalen Perfusion nur eine Widerstandserhöhung im Gefäßsystem in Betracht. Aktive Vaso-
konstriktion und intra- oder extravasale Ursachen müssen dafür in Erwägung gezogen werden. Mit den morphologischen Methoden lassen sich in unseren Untersuchungen nur Hinweise für intra- und extravasale Prozesse finden. Eine Beteiligung aktiver Vasokonstriktion ist aus dem vorliegenden Versuchsplan nicht zu belegen, funktionell ausgerichtete Versuche mit Vasodilatoren könnten darüber Aufschluß geben (s. Schema 1).

GFR

Die Abnahme des RBF geht mit einer Abnahme der GFR einher, wobei die Beeinflussung des RBF durch die eben aufgeführten Ursachen oder über den tubuloglomerulären Feedbackmechanismus erklärbar wäre, der mit unseren Methoden allerdings nicht faßbar ist. Mit Verringerung der Filtrationsfläche und Permeabilitätsabnahme der Filtrationsmembran werden Mechanismen beschrieben, die die Ursachen für Einschränkungen des Filtrats im Glomerulum selbst lokalisieren, während Tubulusobstruktion von außen durch Vorgänge im Interstitium und von innen durch Verlegung mit Zylindern oder Zellen extraglomerulär lokalisierte Ursachen beschreiben, die der Filtration entgegenwirken. Schließlich muß für bestimmte Situationen ein Rückdiffusionskreislauf des Glomerulumfiltrats infolge eines durchlässigen Tubuluszellverbands diskutiert werden, der die Abnahme der GFR nur vortäuscht (s. Schema 1).

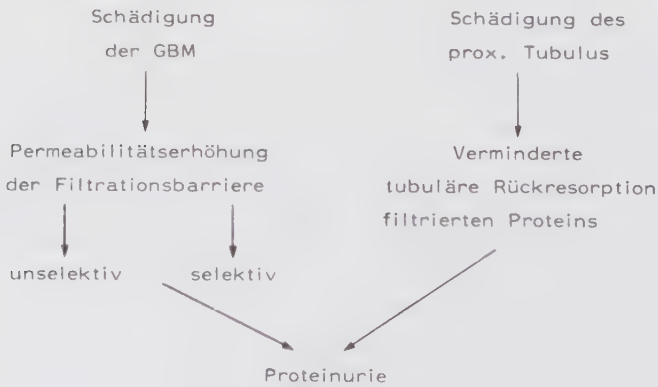
Schema 1: Ursachen für RBF- und GFR-Abfall



Proteinurie

Erhöhte Eiweißausscheidung im Urin kann primär glomeruläre oder tubuläre Ursachen haben. Der glomerulären Proteinurie liegen BM-Schäden unterschiedlicher Genese zugrunde, die vornehmlich über Ladungsänderungen in der Membran die Permeabilität für Eiweiße erhöhen. Dabei lassen sich unselektive Proteinurien mit Nachweis aller Plasmaeiweißfraktionen im Urin von selektiven Proteinurien abgrenzen, die Eiweiße im Molekulargewichtsbereich nahe dem Albumin ausscheiden. Eine tubuläre Proteinurie dagegen ist als Ausdruck gestörter Rückresorption normal filtrierter niedermolekularer Eiweiße infolge einer Schädigung proximaler Tubuluszellen aufzufassen. Diese meist quantitativ geringe Eiweißausscheidung ist deshalb durch einen hohen Anteil niedermolekularer Proteine charakterisiert (s. Schema 2).

Schema 2: Ursachen einer Proteinurie



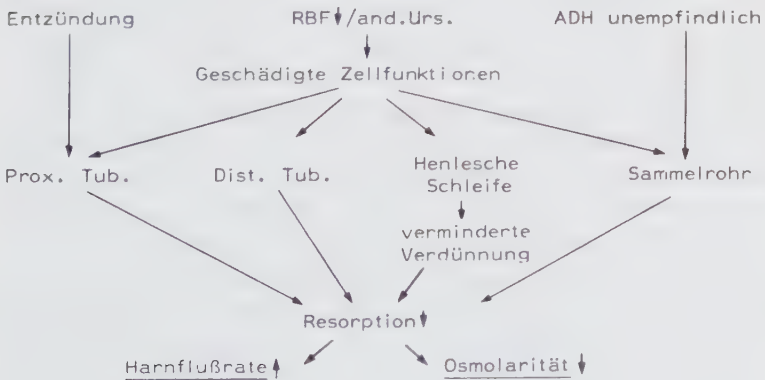
Harnflußrate

Erhöhung der Harnflußrate läßt auf verminderte Resorption schließen, wobei als Ort prinzipiell alle Abschnitte der Harnkanälchen in Frage kommen. Aus unseren Untersuchungen liegen nur für eine Beteiligung des proximalen Tubulus morphologische und funktionelle Hinweise vor, in geringem Ausmaß auch für die Henlesche Schleife. Auf eine Mitbeteiligung distaler Tubuli und Sammelrohre kann nicht geschlossen werden (s. Schema 3).

Osmolarität

Das Harnkonzentrierungsvermögen kann eingeschränkt sein, wenn die Henlesche Schleife nicht in der Lage ist, eine hypotone Tubulusflüssigkeit aufzubauen oder die Permeabilität der Sammelrohre für Wasser erniedrigt ist (z.B. ADH-Unempfindlichkeit, Zellschädigung). Hinweise auf diese Mechanismen sind aus unseren Befunden nicht direkt abzuleiten (s. Schema 3).

Schema 3: Ursachen für veränderte Harnflußrate und Osmolarität



3. Die Krankheitsmodelle

3.1. Glomeruläre Erkrankungen

3.1.1. Anti-GBM-GN

An der Anti-GBM-GN durch ein nephrotoxisches Serum wurden bis heute zahlreiche Fragestellungen vor allem immunologischer Art beantwortet. Unser Anliegen, Messung der Nierenfunktion und ihre Deutung im Zusammenhang mit den morphologischen Veränderungen, stand nur selten im Mittelpunkt des Interesses (1,3,34,45).

Die histologischen und immunhistologischen Befunde unserer Untersuchungen umfassen das charakteristische Spektrum der für dieses Krankheitsbild beschriebenen Veränderungen (1,54,55). Im Gegensatz zu anderen Autoren haben wir aber der Reihenfolge des Auftretens und dem zeitlichen Ablauf, vor allem was das Interstitium angeht, stärkere Beachtung geschenkt:

Die heterologe Phase der Erkrankung wird durch Injektion eines heterologen Antiserum gegen antigene Strukturen in der GBM eingeleitet. Bereits wenige Minuten im Anschluß an den Immunisierungsvorgang lassen sich die injizierten (Kaninchen-) Ak linear an der GBM gebunden nachweisen (21), parallel dazu werden in den Glomerula segmentale Schlingennekrosen vorgefunden. Mit Beginn der autologen Phase um den 5. Tag setzt die Reaktion des Organismus auf das "implantierte Antigen" an der GBM ein: Ratten-Ak binden linear an die GBM und unter Beteiligung des Komplementsystems (55) wird eine massive Entzündungsreaktion ausgelöst, die sich histologisch mit endokapillärer und mesangialer Zellproliferation, Ansammlung von Granulocyten und später auch Halbmondbildung manifestiert. Während sich dieser Krankheitsprozeß intraglomerulär abspielt, bleiben nach lichtmikroskopischen Kriterien Tubulussystem und Interstitium in Rinde und Mark unbeeinflusst. Erst in einem späten Stadium jenseits des 40. Tages gewinnen Veränderungen an Harnkanälchen und Rundzellinfiltrate im Interstitium an Bedeutung, ein Befund, der häufig beschrieben wurde (1,34),

ohne den Zeitpunkt des Auftretens festzulegen und ihm Beachtung zu schenken. Die Anti-GBM-GN ist damit anhand unserer Untersuchungen bis zum 40. Tag eine Modellerkrankung, die sich nach den morphologischen Kriterien ausschließlich in den Glomerula abspielt, ohne daß Tubuli und Interstitium betroffen sind.

Der ERPF erkrankter Tiere unterscheidet sich über den gesamten Beobachtungszeitraum im Mittel nicht signifikant von Kontrollen. Der Befund bestätigt damit die Ergebnisse von Allison et al. (1). Lediglich einzelne Tiere zeigen vornehmlich am Erkrankungshöhepunkt geringe Einschränkungen. Morphologische Befunde dagegen weisen mit Blutstase und Fibrin in nekrotischen Kapillaranteilen, kollabierten Schlingen und endokapillärer Proliferation darauf hin, daß zumindest Teilbereiche des glomerulären Konvoluts von der Perfusion ausgeschlossen sind. Microfilexperimente unterstützen die Vermutung. Als Korrelat zu unvollständig perfundierten Glomerula werden in der Gefäßdarstellung flaue, nur teilweise gefüllte Nierenkörperchen getroffen, diskrete Rarifizierung des Kapillarsystems der Rinde und der Gefäßbündel des Marks deuten an, daß die Ausflußbahn entsprechender Glomerula mitbetroffen ist. Da keinerlei Hinweise dafür vorliegen, daß dieser Füllungsbeeinträchtigung extravasale oder vasokonstriktorische Ursachen zugrundeliegen, wird ihre Deutung im Sinne eines intraglomerulären (intra/extravasalen) Hindernisses bevorzugt. Trotz der glomerulären Veränderungen von erheblichem Ausmaß ist das funktionelle Korrelat dazu, der ERPF, überraschend wenig beeinträchtigt. Daraus muß geschlossen werden, daß die beschriebenen entzündlichen Prozesse wenig Einfluß auf die renale Durchblutung ausüben.

Die GFR erkrankter Tiere unterscheidet sich nur am 20. Tag deutlich von Kontrollen. Mit einer Differenz der Werte um 20-30% fanden wir einen geringeren Abfall der GFR im Vergleich zu anderen Untersuchungen, die Einschränkungen um 50-60% beschreiben (1,3,45). Allerdings wurde übereinstimmend, aber ohne weitere Beachtung festgestellt, daß von der Abnahme der GFR am stärksten die Tiere betroffen sind, in denen Tubuli und Interstitium in die Entzündung einbezogen sind (1,34).

Diese Situation liegt in unseren Versuchen nur am Ende der Beobachtung vor und deutet dann mit gleichen Funktionswerten bei Einzeltieren eine Tendenz zu stärkerem GFR-Abfall an. Für unsere mäßigen Einschränkungen der GFR sind von den angesprochenen Erklärungsmöglichkeiten einige leicht auszuschließen. Intratubuläre Druckerhöhung, die der Filtration entgegenwirkt, scheint unwahrscheinlich: Es finden sich keine morphologischen Hinweise für intra- oder extratubuläre Ursachen, die den Druck beeinflussen könnten und bei einem ähnlichen Modell wurden in Mikropunktionsuntersuchungen normale Druckwerte im proximalen Tubulus gefunden (45). Ein Rückdiffusionskreislauf durch ein geschädigtes Tubuluszellsystem läßt sich ebenfalls ausschließen: Allison (1) wies nach, daß die Rückgewinnungsrate von ^3H -Inulin aus geschädigten Tubuli nicht von der Rate aus normalen Tubuli abwich und Rocha (45) zeigte an Einzelnephronen, daß die Filtrationsrate im distalen Tubulus gegenüber der im proximalen Tubulus nicht verringert war. Neben der möglichen Beeinflussung der GFR durch die geringfügige Änderung der renalen Durchblutung, bleiben noch die glomerulär lokalisierten Ursachen mit Einfluß auf das Filtrat zu diskutieren. Der Zusammenhang zwischen Filtrationsfläche und GFR ist einleuchtend, allerdings scheint unter normalen Bedingungen weniger als die gesamte glomeruläre Kapillaroberfläche für den Filtrationsprozeß notwendig zu sein (14) und das Schlingenkonvolut zeigt mit einer 680-fach vergrößerten Oberfläche gegenüber einer Kugel gleicher Größe eine beträchtliche funktionelle Reservekapazität (43). Daraus ließe sich ableiten, daß selbst bei ausgeprägten entzündlichen Läsionen im Glomerulum die Fläche keinen limitierenden Faktor für das Glomerulumfiltrat darzustellen braucht. In unseren Versuchen liegen morphologische Hinweise für eine reduzierte Filtrationsfläche vor, ihr Einfluß auf die GFR kann bei kaum erniedrigten Clearancewerten aber nur gering sein. Inwieweit die histologisch alterierte GBM zu einer Permeabilitätsabnahme für harnpflichtige Substanzen führt und über diesen Weg der glomerulären Filtration entgegenwirkt, kann schwer beurteilt werden. Festzuhalten bleibt, daß die beschriebenen glomerulären Veränderungen die

GFR nicht wesentlich reduzieren können; ein stärkerer Abfall tritt erst auf, wenn Tubuli und Interstitium in die Entzündung eingeschlossen sind.

Eine erhöhte Durchlässigkeit der BM für Eiweiß setzt bereits frühzeitig nach Immunisierung (21) ein. Über den gesamten Krankheitsverlauf hinweg besteht eine hochgradige Proteinurie, wobei allerdings in unseren Untersuchungen, im Gegensatz zu Baeyer (3), zu Beginn der autologen Phase mit Bindung spezies-eigener Ak an der Membran nochmals eine deutliche Zunahme der ausgeschiedenen Proteinmenge zu verzeichnen war. In Übereinstimmung mit Allison (1) lagen trotz des Eiweißverlustes bis maximal 300mg/16h zu keinem Zeitpunkt Hinweise für die Ausbildung von Ödemen vor, von Baeyer (3) dagegen werden sie bereits für quantitativ geringere Proteinurien beschrieben. Entsprechend differieren die Aussagen der beiden Autoren hinsichtlich einer Hypoproteinämie (10%iger (1) und 30%iger (3) Abfall der Plasmaeiweißkonzentration). Übereinstimmend fanden beide, daß im Sinne einer selektiven Proteinurie hauptsächlich Albumin über die Niere verloren geht. Baeyer (3) wies an diesem Modell eine 30-fach erhöhte Permeabilität der GBM für Albumin nach.

Für die Erhöhung der Harnflußrate und Erniedrigung der Osmolarität ließen sich bei histologisch unauffälligem Tubulussystem in Rinde und Mark sowie kaum abgeschwächter Gefäßdarstellung mit Microfil keine morphologischen Besonderheiten als Erklärung anbieten. Mikropunktionsversuche an diesem Modell lassen aber weiterführende Aussagen zu: Alle Untersuchungen bestätigen eine intakte glomerulo-tubuläre Balance (1,3,34,45). Rocha (34) fand am proximalen und distalen Tubulus erkrankter Tiere keine veränderten Werte für die fraktionelle Resorption von Wasser und Natrium und schloß sie damit als Ort vermindelter Resorption aus. Normale Zusammensetzung der filtrierten Flüssigkeit in der ersten Hälfte des distalen Tubulus legte nahe, daß die Henlesche Schleife in der Lage ist, normale osmotische und Kochsalz-Gradienten aufzubauen. Ein noch identisches Verhältnis von TF_{In} / P_{In} (TF = Tubulusflüssigkeit, P = Plasma, In = Inulinkonzentration) im distalen Tubulus

normaler und erkrankter Tiere, aber ein erniedrigtes Verhältnis im Endharn von Versuchstieren weisen auf das Sammelrohr als den Ort verminderter Resorption hin und könnten gleichzeitig die verminderte Osmolarität erklären. Über die Ursachen einer vermuteten Permeabilitätsabnahme für Wasser kann an dieser Stelle nur spekuliert werden. Zu diskutieren sind Möglichkeiten, die das Sammelrohr für ADH - es war unter unseren Durstbedingungen wahrscheinlich maximal stimuliert - unempfindlich machen oder seine Wirkung antagonisieren (z.B. auf Ebene des Rezeptors). Weitere Klärung dieses Punktes steht noch aus.

3.1.2. AICN

Mit der AICN als Beispiel einer Immunkomplexerkrankung wurde ein zweites glomeruläres Krankheitsprinzip in Struktur-Funktions-Überlegungen einbezogen:

Zwei bis drei Wochen im Anschluß an eine Immunisierung mit dem autologen Bürstensaum-Ag proximaler Tubuli können an der GBM immunhistologisch in steigender Zahl und Dichte typisch granulär abgelagerte IK dargestellt werden (39). Während ursprünglich davon ausgegangen wurde, daß zirkulierende IK aus Bürstensaum-Ag und Ak an der BM deponiert werden (20), liegen jetzt Hinweise für die in-situ Bildung dieser Immunaggregate an der Membran vor (19). Histologisch wird die Erkrankung als perimembranöse GN beschrieben.

In unserem Beobachtungsintervall lassen sich stets in gleicher Form die charakteristischen granulären Depots an der GBM als Ausdruck der IK-Erkrankung in den immunhistologischen Untersuchungen nachweisen. Der histologische Befund ist relativ geringfügig und beschränkt sich auf die scheinbar verbreiterte BM in den Glomerula. Der Zellgehalt der Nierenkörperchen ist normal. Tubuli und Interstitium sind unauffällig. Damit liegen unsere morphologischen Befunde in guter Übereinstimmung mit Angaben aus der Literatur (19,41).

Mit normalen Werten für die ^{131}J -Hippuran- und ^{51}Cr -EDTA-Clearance sowie Harnstoff und Kreatinin liegt in unserem Beobachtungszeitraum bei erkrankten Tieren kein Hinweis für eine

Beeinträchtigung der renalen Durchblutung und der GFR vor. Die pathologisch veränderte BM übt offensichtlich keinen Einfluß auf die GFR im Sinne einer Permeabilitätserniedrigung für harnpflichtige Substanzen aus. Allison (1) fand an diesem Modell gleichfalls normale Durchblutungswerte, im Gegensatz zu uns aber einen Abfall der GFR um etwa 50%. Sie beschreibt aber in ihren Tieren Veränderungen an dem Tubulusepithel sowie interstitielle Infiltrate, die während unseres Beobachtungsintervalls nicht festzustellen waren. Damit wurde in Kontrast zu uns kein rein glomeruläres Krankheitsmodell untersucht, so daß interstitielle Faktoren für die beschriebene Abnahme der GFR mit zu berücksichtigen sind. Als Ursache dieses different ausgeprägten Krankheitsbildes könnten sowohl die Anwendung eines anderen Immunisierungsverfahren und besonders die Verwendung eines anderen Rattenstammes in Betracht kommen, aber auch der späte Untersuchungszeitpunkt (5-20 Monate nach Immunisierung).

Mit normaler Histologie und Microfildarstellung stehen unsere morphologischen Befunde in guter Übereinstimmung mit den normalen Clearancebefunden. Wir haben damit an einer zweiten glomerulären Erkrankung gezeigt, daß ein ausschließlich auf die Nierenkörperchen beschränkter Krankheitsprozeß keinen entscheidenden Einfluß auf RBF und GFR nehmen muß.

Als einziger pathologischer Funktionsparameter wurde bei der AICN eine krankheitstypische mittel- bis hochgradige Proteinurie mit Werten um 150-300mg/16h gefunden. Für diese Permeabilitätsstörung sind bei histologisch relativ geringfügigen Veränderungen die Immunedots verantwortlich zu machen. Höhe der Proteinurie und Ausmaß histologischer Veränderungen lassen sich nur schlecht korrelieren (1). Im Gegensatz zu der Anti-GBM-GN setzt die Permeabilitätserhöhung für Eiweiß nur langsam und in Bezug auf die Ablagerung erster IK (2-4 Wochen nach Immunisierung) deutlich verzögert (8 Wochen nach Immunisierung) ein (39). Trotz Eiweißausscheidung in dieser Höhe waren in Übereinstimmung zu dem vorangegangenen Modell keine Ödeme nachweisbar. Allison (1) fand bei erkrankten Tieren normale Plasmaeiweißspiegel. Albumin wurde als das hauptsäch-

lich ausgeschiedene Protein beschrieben (41), somit liegt eine selektive Proteinurie vor.

Bei histologisch intaktem Tubulussystem in Mark und Rinde weisen als funktionelles Korrelat normale Werte für Harnflußrate und Osmolarität auf ungestörte Resorption und intaktes Konzentrationsvermögen hin. Ähnliche Veränderungen wie bei der Anti-GBM-GN treten bei diesen Urinparametern nicht auf.

3.2. TIN

Mit der TIN durch TBM-Ak steht der experimentellen Medizin ein Krankheitsmodell zur Verfügung, in dem die pathologischen Vorgänge praktisch ausschließlich auf den tubulointerstitiellen Raum beschränkt bleiben, ohne die Nierenkörperchen erkennbar mit einzubeziehen. Die Erkrankung verhält sich damit invers zu den beschriebenen glomerulären Krankheiten, in denen sich bei unauffälligem Tubulointerstitium die pathologischen Prozesse praktisch ausschließlich an den Glomerula manifestieren.

Immunisierung mit TBM stimuliert die Ratte zur Produktion von Ak, die gegen antigene Membranstrukturen gerichtet sind (33). Die Ak lassen sich immunhistologisch erstmals ca. 8 Tage nach Immunisierung linear an der BM proximaler Rindentubuli nachweisen (28). Unter Beteiligung des Komplementsystem wird ein Entzündungsprozeß eingeleitet, der um den 10. Tag mit Einstrom von Granulocysten in das Interstitium seinen Ausgang nimmt und innerhalb kürzester Zeit zu einem hochgradig pathologischen Befund am Interstitium führt. Die Entzündung setzt herdförmig verteilt ein, bevorzugt oberflächennahe Rindenbereiche und verschmälert sich häufig zum Mark hin; daneben werden histologisch unauffällige Abschnitte angetroffen (28). In kurzer Zeit nehmen die Herde an Zahl und Größe zu, konfluieren offensichtlich im subcapsulären Bereich und umfassen schließlich nahezu vollständig die äußere Hälfte der Rinde. Etwa am 15. Tag findet man dann granulomatöse Zellformationen um zugrundehende Tubuli und Riesenzellen vom Langhansschen Typ (31). Zu späteren Zeitpunkten bestimmen lympho-histiocytäre Elemente mit großem Anteil an T-Zellen (35) das Bild des interstitiellen

Infiltrats, bis schließlich, mit Abklingen der akuten Phase, Infiltrate in den Hintergrund treten und allmählich Fibrosierungsprozesse im Interstitium einsetzen. Das glomeruläre Schlingenkonvolut wird von den Entzündungsvorgängen nach histologischen Kriterien nicht erfaßt, nur gelegentlich finden sich in Spätstadien Fibrosierungen der Bowmanschen Kapsel. Dieser morphologisch beschriebene Krankheitsablauf wird mit den Befunden unserer Untersuchungen vollauf bestätigt. Zu den Microfilexperimenten und Untersuchungen zur Nierenfunktion, die über Angaben zu Kreatinin und Harnstoff hinaus gehen, sind bisher unseres Wissens keine Voruntersuchungen publiziert.

Der ERPF von Versuchstieren fällt parallel zu den ersten pathomorphologischen Befunden um den 10. Tag stark auf ca. 20% des Ausgangswertes ab, erreicht seinen Tiefpunkt am 20. Tag und stabilisiert sich in der Folge bei Werten um 40% des ursprünglichen Niveaus. Der Befund unterschied sich bei jeder Messung hochsignifikant von Kontrollen. Das tubuläre Transportmaximum für J-Hippuran liegt in der Ratte bei 35 mg, mit einer eingesetzten Menge von max. 3 mg in unseren Versuchen läßt sich ausschließen, daß durch Überschreitung des Transportmaximums fehlerhafte Angaben für den ERPF resultieren. Für die überraschend starke Beeinträchtigung der renalen Durchblutung müssen anhand unserer Befunde in allererster Linie die Vorgänge im Interstitium verantwortlich gemacht werden. Mögliche intravasal gelegene Ursachen mit Auswirkung auf den RBF sind morphologisch nicht feststellbar. Dagegen liegt nahe, daß die Gefäße von außen durch die pathologischen Prozesse im Interstitium beeinflußt werden. In diesem Sinne ist die Möglichkeit einer mechanischen Kompression von Teilen des Gefäßsystems durch das dicht mit Infiltratzellen vollgepackte Interstitium zu diskutieren. Die resultierende Widerstandserhöhung in betroffenen Gefäßen wirkt dem Blutfluß entgegen und könnte auf diesem Weg den Abfall des ERPF erklären. Aufgrund des einfachen Wandaufbaus der intertubulären Kapillaren ohne Muskulatur und der niedrigen intravasalen Druckwerte (um 15mmHg) ist diese Vorstellung am ehesten auf diese postglomerulären Kapillaren anwendbar, wenngleich eine Einfluß-

nahme bereits auf präglomerulärer Ebene nicht auszuschließen ist. Letzteres gilt, solange keine Aussagen über die Höhe des Drucks im Interstitium vorliegen, eher als unwahrscheinlich, weil hierfür erheblich stärkere Kräfte nötig wären. Der in der Nierenfunktion ausgedrückte Abfall der renalen Durchblutung läßt sich morphologisch eindrucksvoll an Microfildarstellungen des arteriellen Gefäßsystems demonstrieren. In starkem Kontrast zu normalen Füllungsbildern wurden bei dieser Erkrankung massive Füllungsdefekte mit Microfil gefunden. In enger Korrelation zum Histologiebefund waren sie zunächst noch auf Einzelherde begrenzt, am Höhepunkt der Erkrankung aber war von dem gesamten arteriellen Gefäßsystem der Niere unter Einschluß des Marks nahezu keine Darstellung mehr möglich. Geht man davon aus, daß normal perfundierte Gefäße füllbar sind, muß aus den Ergebnissen geschlossen werden, daß in diesem Stadium die renale Durchblutung fast zum Erliegen gekommen sein muß. Die Microfilbefunde bestätigen damit optisch das Resultat der ERPF-Bestimmungen. Die Interpretation dieses Befundes als Füllungsartefakt konnte ausgeschlossen werden: Ein TIN-Tier mit einer erkrankten und einer transplantierten gesunden Niere wurde mit Microfil gefüllt (die Transplantation wurde freundlicherweise von T. Umscheid, Doktorand des Immunbiologischen Labor, durchgeführt). Dem hochgradig pathologischen Füllungsbefund der erkrankten Niere stand ein normales Füllungsmuster der transplantierten Niere gegenüber, und dies trotz der chirurgischen Manipulationen an den Gefäßen im Rahmen des Transplantationseingriffs zwei Tage zuvor (Abb. 44).

Die Lokalisation des Strömungshindernisses kann auch aus den Microfilexperimenten nicht abgeleitet werden: Eine massive Kompression des postglomerulären Kapillarsystems mit "stehendem" Blut in der vorgeschalteten Gefäßstrecke kann, nach theoretischer Überlegung, zu dem gleichen Bild nicht gefüllter Nierenbereiche führen, wie die vollständige Kompression eines Gefäßes auf präglomerulärer Ebene.

Nicht angesprochen wurde bisher eine eventuelle Beteiligung aktiver Vasokonstriktion. Unwahrscheinlich ist, daß sie allein den massiven Abfall des ERPF erklären kann. Eine Mitbeteiligung

ist aus unseren Versuchen bisher nicht abzuleiten, die Frage ließe sich aber möglicherweise mit dem Einsatz von Vasodilatoren klären.

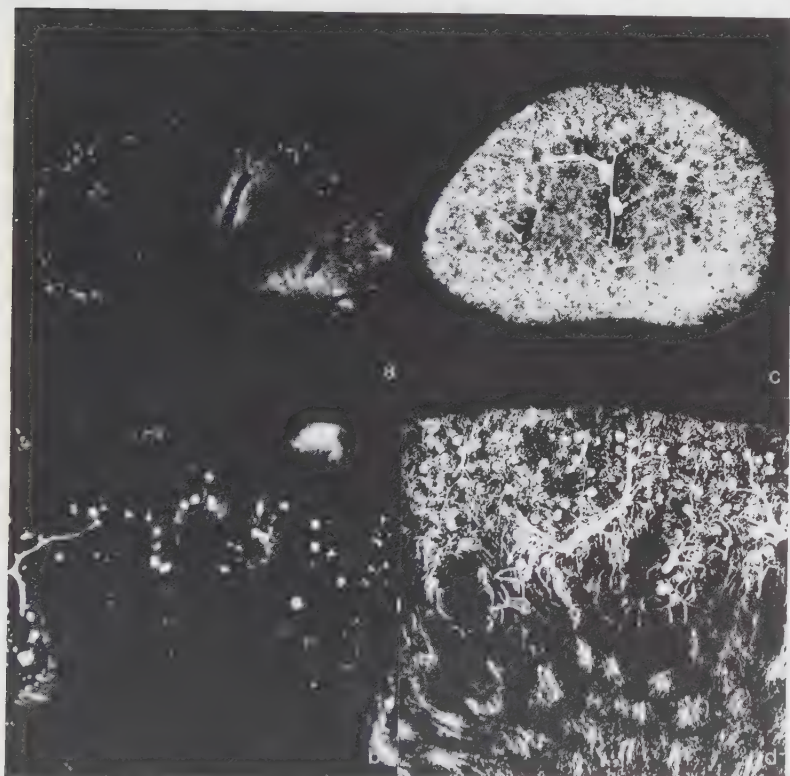


Abb.44: Arterielle Gefäßdarstellung mit Microfil an einem TIN-Tier mit einer erkrankten und einer transplantierten, gesunden Niere

	TIN-Niere	Transplantatnieren
a)	massive	normales
b)	Füllungsdefekte	Füllungsmuster

Für die stark reduzierte GFR an diesem Modell bieten unsere morphologischen Befunde vor allem drei Erklärungen an:

An erster Stelle und ganz im Vordergrund steht die Beeinträchtigung der GFR als Folge des hochgradig eingeschränkten Blutflusses aus den angeführten Gründen. Die Pathologie des Interstitium könnte aber daneben für Tubuli die gleichen Konsequenzen haben wie für Kapillaren. Druckanstieg im Interstitium würde mit einem Druckanstieg im proximalen Tubulus einhergehen, der der Filtration entgegenwirkt. Schließlich finden sich neben den angesprochenen Veränderungen im Interstitium mit fragmentierten TBM und intratubulär gelegenen Entzündungszellen auch morphologische Hinweise für nicht intakte Tubulusepithelverbände und eröffnen damit die Möglichkeit für einen Rückdiffusionskreislauf des Glomerulumfiltrats, lediglich mit Vortäuschung einer erniedrigten GFR. Das Ausmaß dieses "Kreislaufs" wäre dann aber unter Berücksichtigung der massiv eingeschränkten Durchblutung eher gering einzuschätzen. Beweise für die Rückdiffusion glomerulär filtrierter Substanzen durch ein tubuläres Leck könnten mit den bereits bei den glomerulären Krankheitsmodellen diskutierten Mikropunktionsmethoden erbracht werden.

Um den hochgradigen Abfall der GFR bei dieser Erkrankung zu erklären, könnte nach unserer Ansicht ein Zusammenspiel aller drei angesprochenen Mechanismen infrage kommen. Über die quantitative Bedeutung der einzelnen Mechanismen lassen sich schwer Aussagen ableiten, es ist aber sehr wahrscheinlich, daß dem Abfall des RBF eine dominierende Rolle zukommt.

Nach unserer Vorstellung führt die massive interstitielle Infiltration zu einem Druckanstieg im Interstitium, weil die Kapsel die Niere daran hindert, sich während des Einstroms von Entzündungszellen beliebig auszudehnen. Aus dieser theoretischen Überlegung könnten zwei entscheidende Punkte abgeleitet werden:

- Ein Druckanstieg müßte das ganze Interstitium gleichmäßig betreffen, kann also nicht auf Stellen begrenzt bleiben, an denen gehäuft Infiltrate vorliegen. Diese Vorstellung steht in vorzüglicher Übereinstimmung mit dem Microfilbefund am Höhepunkt der Erkrankung, zu dem in der gesamten Niere keine

Gefäße zur Darstellung kommen, also auch Füllungsdefekte in nicht direkt von der Entzündung betroffenen Organbereichen bestehen, z.B. marknah. Herrscht hier der gleiche erhöhte Druck wie in den stark involvierten subcapsulären Rindenbereichen und damit dieselbe Kraft, die RBF und GFR entgegenwirkt, ist dieser Füllungsbefund nicht mehr verwunderlich. Interessant wäre es, dem Problem mit Mikropunktionsuntersuchungen weiter nachzugehen. Dabei ließen sich erhöhte intratubuläre Druckwerte und eine Abnahme der GFR an Einzelnephronen auch in nicht involvierten Bereichen erwarten.

- Als Konsequenz der Überlegungen müßte mit Methoden die zu einer Druckentlastung führen eine umfassende Besserung der Nierenfunktion zu erzielen sein. In einem ersten Ansatz wurde zur Testung dieser Hypothese ein Versuch geplant, in dem eine Niere an TIN erkrankter Tiere unberührt bleibt, der zweiten Niere aber rechtzeitig vor dem Einstrom der Entzündungszellen durch Dekapsulierung die Möglichkeit eröffnet wird, sich stärker auszudehnen und damit dem vermuteten Druckanstieg besser zu begegnen. Von seitengetrenten Clearancebestimmungen erwartet man dann signifikante Unterschiede. Tatsächlich konnte an einem ersten Tier auf diese Weise gezeigt werden, daß die dekapsulierte Niere einen 4-fach höheren Wert für den ERPF und einen 3-fach höheren Wert für die GFR im Vergleich zu der erkrankten Niere zeigt, der die Kapsel belassen wurde. Die fraktionelle Resorption der behandelten Niere war weniger eingeschränkt, ebenso die freie Wasserclearance, als Ausdruck einer funktionstüchtigen Henleschen Schleife. Das Konzentrationsvermögen zeigte sich im Vergleich zu der unbehandelten Niere deutlich verbessert. Microfilbefunde mit Nachweis einer verbesserten Gefäßfüllung liegen noch nicht vor.

Die Ursachen erhöhter Harnflußrate und erniedrigter Osmolarität sind aus unseren Befunden allein schwer einzugrenzen. Verminderte Resorption kann Folge einer Schädigung auf jeder Ebene des Tubulussystems sein. Für einen direkten Schaden an den proximalen Tubuli in Entzündungsarealen sprechen deutlich die morphologischen Befunde mit Atrophien und Nekrosen, mit der nachgewiesenen tubulären Proteinurie (8) als Ausdruck

gestörter Eiweißrückresorption aber auch ein renaler Funktionsparameter. Weitere einfache Methoden um über den Funktionszustand dieses Nephronabschnitts Aussagen zu erhalten, wären Bestimmungen der Glucose-, Phosphat- und bedingt auch der Natrium-Ausscheidung im Urin. Neben den direkt betroffenen Tubuli könnte auch eine gestörte Zellfunktion marknaher nicht unmittelbar in die Entzündung einbezogener Tubuli auf Basis einer Minderdurchblutung diskutiert werden, belegt durch die Microfildarstellung. Hinweise für eine geschädigte Funktion der Henleschen Schleife ließ sich in ersten Versuchen aus einer verminderten freien Wasserclearance bei ausreichendem Glomerulumfiltrat ableiten. Eventuell ist, im Sinne einer Minderversorgung, hierfür ebenfalls ein morphologisches Korrelat in dem Microfilbefund zu sehen, der die Markgefäße als nicht darstellbar beschreibt. Geht der Henleschen Schleife die Fähigkeit verloren einen hypotonen Harn aufzubauen und damit wesentliche Voraussetzungen für weitere Rückresorptions- und Konzentrierungsprozesse zu schaffen, ist daraus auch eine Osmolaritätsabnahme abzuleiten. Zu der glomerulo-tubulären Balance bei diesem Modell sind mit unseren Ergebnissen keine Aussagen möglich. Ähnliche pathophysiologische Mechanismen wie sie für die Anti-GBM-GN in Bezug auf das Sammelrohr diskutiert wurden, sind aus den vorliegenden Befunden nicht zu beurteilen.

VI. Zusammenfassung

In den letzten Jahren beschrieben verschiedene Pathologen übereinstimmend unerwartete Zusammenhänge zwischen den strukturellen Veränderungen an Biopsiematerial von GN-Patienten und der zugehörigen Nierenfunktion. Einschränkungen der GFR korrelierten überraschenderweise nicht mit dem Ausmaß pathologischer Prozesse im Glomerulum, stattdessen wurde ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen der GFR und dem Grad interstitieller Veränderungen festgestellt.

Vor dem Hintergrund dieser Befunde haben wir uns die Aufgabe gestellt, der Bedeutung des Interstitium für die Nierenfunktion nachzugehen. Zu diesem Zweck wurden an drei immunologisch verursachten Nierenerkrankungen der Ratte die Beziehungen zwischen Morphologie und Funktion untersucht, wobei zwei glomeruläre Erkrankungen einer tubulointerstitiellen Nephritis gegenüberstanden. Die Aussagen zur Pathomorphologie basierten auf makroskopischen Befunden, Histologie, Immunhistologie und einer Darstellung des arteriellen Nierengefäßsystems mit Microfil. Für die Beurteilung der Nierenfunktion wurden neben Urinparametern und Serumretentionswerten vor allem Bestimmungen des ERPF und der GFR aus Clearanceuntersuchungen mit einer nicht-invasiven nuklearmedizinische Methode herangezogen.

Die experimentelle Anti-GBM-GN wird durch Antikörper eingeleitet, die linear an der GBM binden. Der Vorgang führt zu einer erhöhten Permeabilität der Membran für Eiweiß und damit einer hochgradigen Proteinurie. Histologisch verläuft die Erkrankung unter dem Bild einer proliferativ-nekrotisierenden GN. Das Interstitium ist in den ersten Wochen der Erkrankung pathomorphologisch unauffällig. Die Nierenkörperchen sind durch Zellproliferation zellreich, Kapillarschlingen zeigen Nekrosen und kollabierte Anteile. In Übereinstimmung mit diesen Befunden imponieren die Glomerula in der arteriellen Gefäßdarstellung unvollständig und flau gefüllt. Die beschriebene Pathomorphologie zeigt nur ein geringes funktionelles Korrelat: ERPF und GFR sind allenfalls geringfügig eingeschränkt, mäßig erhöhte Harnflußrate mit erniedrigter Osmolarität lassen sich nicht eindeutig zu den Strukturveränderungen in Beziehung setzen.

Die AICN wird in Histologie und Immunhistologie als perimembranöse Glomerulonephritis beschrieben. Die Nierenkörperchen tragen subepithelial Immunkomplexe, histologisch fällt eine scheinbar verbreiterte Basalmembran auf, das Interstitium ist unauffällig. Als funktionelles Korrelat wird eine mittel- bis hochgradige Proteinurie gefunden. Die Darstellung des arteriellen Gefäßsystems mit Microfil zeigt keine Abweichungen vom Normalbefund. In Übereinstimmung mit den morphologischen Befunden werden für den ERPF und die GFR normale Werte bestimmt. Normale Harnflußrate und Osmolarität deuten auf ungestörte Resorption und Konzentrierungsleistung hin.

Bei dem Krankheitsmodell der tubulointerstitiellen Nephritis spielt sich die Entzündungsreaktion ausschließlich im Interstitium ab, die Glomerula bleiben pathomorphologisch unverändert. Linear an proximale Harnkanälchen gebundene TBM-Antikörper leiten die Entzündung ein. Massive interstitielle Infiltrate wechselnden Zelltyps, um die zugrundegegangenen Tubuli angeordnet, bestimmen das histologische Bild der Erkrankung. Der Entzündungsprozeß geht mit einer ausgeprägten Größenzunahme des interstitiellen Raums einher. Bei der arteriellen Gefäßdarstellung werden hochpathologische Füllungsbefunde erhoben. Glomerula und Kapillaren in weiten Bereichen der Rinde, aber auch die Gefäßbündel des Markes, lassen sich nicht mit Microfil darstellen. Als funktionelles Korrelat findet man hochgradige Einschränkungen des ERPF und der GFR. Harnflußrate und Osmolarität zeigen ebenfalls deutlich pathologische Werte. Als Ausdruck der direkten Schädigung proximaler Tubuli tritt eine niedermolekulare, tubuläre Proteinurie auf.

Glomeruläre Veränderungen wie Zellproliferation, Kapillarnekrosen und -kollaps, sowie Störungen an der BM führen in unseren Modellen höchstens zu geringgradigen Änderungen von ERPF und GFR. Interstitielle Faktoren dagegen, wie Ödem, Fibrose oder das zelluläre Infiltrat können die Nierendurchblutung und die glomeruläre Filtrationsrate stark beeinflussen. Dieser vom Pathologen am menschlichen Biopsiematerial festgestellte Zusammenhang konnte durch unsere Experimente am Tier bewiesen werden.

Literaturverzeichnis

- (1) Allison, M.E.M., Wilson, C.B., Gottschalk, C.W.: Pathophysiology of Experimental Glomerulonephritis in Rats
J.Clin.Invest. 53:1402, 1974
- (2) Andres, G.A., Mc Cluskey, R.T.: Tubular and interstitial renal disease due to immunologic mechanisms
Kidney Int. 10:425, 1975
- (3) Baeyer von, H., Van Liew, J.B., Klassen, J., Boylan, J.W.: Filtration of protein in the anti-glomerular basement membrane nephritic rat: A micropuncture study
Kidney Int. 10:425, 1976
- (4) Baxter, J.H., Goodman, H.C.: Nephrotoxic Serum Nephritis in Rats. I. Distribution and Specificity of the Antigen Responsible for the Production of Nephrotoxic Antibodies
J.Exp.Med. 104:467, 1956
- (5) Blaurox, M.D., Guttman, R.D., Merrill, J.P.: Measurement of renal function in the rat with single injection clearances
Am.J.Physiol. 212:629, 1967
- (6) Blaurox, M.D., Cohen, A.: Single-injection clearances of iothalamate - ¹³¹I in the rat
Am.J.Physiol. 218:542, 1970
- (7) Boesken, W.H., Kopf, K., Schollmeyer, P.: Differentiation of proteinuric disease by discelektrophoretic molecular weight analysis of urinary proteins
Clin.Nephrol. 1:311, 1973

- (8) Boesken, W.H.: Abstract des Niederl. - Deutschen Nephrologen Treffens, Maastricht, 1985

- (9) Bohle, A., Bader, R., Grund, K.E., Mackensen, S., Neunhoffer, J.: Serum Creatinine Concentration and Renal Interstitial Volume. Analysis of Correlations in Endocapillary (Acute) Glomerulonephritis and in Moderately Severe Mesangioproliferative Glomerulonephritis
Virchows Arch.A.Path.Anat. and Histol. 375:87, 1977

- (10) Bohle, A., Grund, K.E., Mackensen, S., Tolon, M.: Correlations between Renal Interstitium and Level of Serum Creatinine. Morphometric Investigations of Biopsies in Perimembranous Glomerulonephritis
Virchows Arch.A.Path.Anat. and Histol. 373:15, 1977

- (11) Bohle, A., Gise v., H., Mackensen-Haen, S., Stark-Jakob, B.: The Obliteration of the Postglomerular Capillaries and its Influence upon the Function of Both Glomeruli and Tubuli. Functional Interpretation of Morphologic Findings
Klin. Wochenschr. 59:1043, 1981

- (12) Bohle, A.: Die Bedeutung des Niereninterstitiums für die Nierenfunktion
Klin.Wochenschr. 60:1186, 1982

- (13) Border, W.A., Lehman, D.H., Egan, J.D., Sass, H.J., Glode, J.E., Wilson, C.B.: Antitubular basement-membrane antibodies in methicillin associated interstitial nephritis
N.Engl.J.Med. 291:381, 1974

- (14) Brenner, B.M., Baylis, C.H., Deen, W.M.: Transport of Molecules across Renal Glomerular Capillaries
Physiol.Rev. 56:502, 1976

- (15) Brod,A.,Benesová,D.: A comperative Study of functional and morphological renal Changes in Glomerulonephritis
Acta Med.Scand. 157:23, 1957
- (16) Delius,M.: Untersuchungen zur Pathogenese der Tubulointerstitiellen Nephritis der Ratte
Inaugural-Dissertation München 1983
- (17) Dieterich,H.J.: Die Struktur der Blutgefäße in der Ratten-niere
Normale und Pathologische Anatomie, Band 35, 1978
- (18) Edgington,T.S.,Glassock,R.J.,Watson,J.I.,Dixon,F.J.:
Characterization and Isolation of Specific Renal Tubular Epithelial Antigens
J.Immunol. 99:1199, 1967
- (19) Fleuren,G.J.,Grond,J.,Hoedemaker,J.: The pathogenic role of free-circulating antibody in autologous immune complex glomerulonephritis
Clin.exp.Immunol. 41:205, 1980
- (20) Glassock,R.J.,Edgington,T.S.,Watson,J.I.,Dixon,F.J.: Auto-logous immune complex nephritis induced with renal tubular antigen. II. The pathogenetic mechanism
J.Exp.Med. 127:573, 1968
- (21) Hammer,K.D.,Dixon,F.J.: Experimental Glomerulonephritis II. Immunologic Events in the Pathogenesis of Nephrotoxic Serum Nephritis in the Rat
J.Exp.Med. 117:1019, 1963
- (22) Heidenreich,P.,Oberdorfer,M.,Hör,G.,Kretschko,J.,Papst,H.W.: Die simultane Bestimmung der glomerulären und tubulären Nierenpartialfunktion mit ^{99m}Tc-DTPA und ¹³¹J-Hippuran am teilabgeschirmten Ganzkörper-zähler
Nucl.Med. 16:119, 1977

- (23) Heymann, W., Hackel, D. B., Harwood, J., Wilson, S. G. F., Hunter, J.:
Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's
adjuvants and rat kidney suspension
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 100:660, 1959

- (24) Hyman, L. R., Colvin, R. B., Steiberg, A. D.: Immunopathogenesis
of autoimmune tubulointerstitial nephritis. 1. Demon-
stration of differential susceptibility in strain II
and strain XIII guinea pigs
J. Immunol. 116:327, 1976

- (25) Höfer, R.: Nierenclearance
Schriftenreihe Hoechst: Nuklearmedizin 1968

- (26) Krakower, C. A., Greenspon, S. A.: Localisation of the nephro-
toxic antigen within the isolated renal glomerulus
A. M. A. Arch. Path. 51:629, 1951

- (27) Krieger, A., Thoenes, G. H., Günther, E.: Genetic Control of
Autoimmune Tubulointerstitial Nephritis in Rats
Clin. Immunol. Immunopathol. 21:301, 1981

- (28) Krieger, A.: Experimentelle, Autoimmune Tubulo-Interstitielle
Nephritis
Inaugural-Dissertation München 1979

- (29) Krisko, I., De Bernardo, E., Sato, C. S.: Isolation and characteri-
zation of rat tubular basement membrane
Kidney Int. 12:238, 1977

- (30) Kriz, W.: Nierenmarkdurchblutung: Morphologische Besonder-
heiten der Gefäße und ihre Anordnung
Klin. Wochenschr. 60:1063, 1982

- (31) Langer, K.H., Thoenes, W.: Characterization of Cells involved in the Formation of Granuloma. An Ultrastructural Study on Macrophages, Epitheloid Cells and Giant Cells in Experimental Tubulo-Interstitial Nephritis *Virchows Arch. (Cell Pathol.)* 36:177, 1981

- (32) Layzell, D., Miller, T.: Determination of glomerular filtration rate in the rat using ^{51}Cr -EDTA and a single blood sample
Invest. Urol. 13:200, 1975

- (33) Lehman, D.H., Wilson, C.B., Dixon, F.J.: Interstitial nephritis in rats immunized with heterologous tubular basement membrane
Kidney Int. 5:187, 1974

- (34) Lubowitz, H., Mazumdar, D.C., Kawamura, J., Crosson, J.T., Weisser, F., Rolf, D., Bricker, N.S.: Experimental glomerulonephritis in the rat: Structural and functional observations
Kidney Int. 5:356, 1974

- (35) Mampaso, F.M., Wilson, C.B.: Characterization of inflammatory cells in autoimmune tubulointerstitial nephritis in rats
Kidney Int. 23:448, 1983

- (36) Mason, J., Torhorst, J., Welsch, J.: Role of medullary perfusion defect in the pathogenesis of ischemic renal failure
Kidney Int. 26:283, 1984

- (37) Masugi, M.: Über die experimentelle Glomerulonephritis durch das spezifische Antinierenserum. Ein Beitrag zur Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis
Beitr. Anat. und allg. Path. 92:429, 1933/34

- (38) Mc Cluskey,R.T.,Klassen,J.: Immunologically mediated glomerular, tubular and interstitial renal disease
N.Engl.J.Med. 288:564, 1973
- (39) Mendrick,D.L.,Noble,B.,Brentjens,J.R.,Andres,G.A.: Antibody mediated injury to proximal tubules in Heymann nephritis
Kidney Int. 18:328, 1980
- (40) Muehrcke,R.C.,Kark,R.M.,Pirani,C.L.,Pollak,V.E.: Lupus nephritis: A clinical and pathological study based on renal biopsies
Medicine 36:1, 1957
- (41) Noble,B.,Van Liew,J.B.,Brentjens,J.R.,Andres,G.A.: Effect of Reimmunization with Fx1A late in the Course of Heymann Nephritis
Lab.Invest. 47:427, 1982
- (42) Oberhausen,E.: Bestimmung der Nierenclearance mit dem Ganzkörperzähler
Schriftenreihe Hoechst: Nuklearmedizin 1968
- (43) Plate,W.R.: Untersuchungen zur Struktur des Glomerulum. Rekonstruktion eines menschlichen Glomerulum an 0,5µm dicken Serienschnitten
Inaugural-Dissertation Tübingen 1976
- (44) Risdon,R.A.,Sloper,J.C.,de Wardener,H.:Relationship between renal function and histological changes found in renal-biopsy specimen from patients with persistent glomerular nephritis
Lancet 2:363, 1968
- (45) Rocha,A.,Marcondes,M.,Malnic,G.: Micropuncture study in rats with experimental glomerulonephritis
Kidney Int. 3:14, 1973

- (46) Sloper, J.C., de Wardener, H., Woodrow, D.F.: Relationship Between Renal Structure and Function Deduced from Renal Biopsies
in: Renal Pathophysiology (ed. A. Leaf et al.)
Raven Press, New York 1980
- (47) Solomon, D.H., Gardella, J.W., Fanger, H., Dethier, F.M., Ferrebee, J.W.: Nephrotoxic Nephritis in Rats. Evidence for the Glomerular Origin of the Kidney Antigen
J.Exp.Med. 90:267, 1949
- (48) Stebley, R.W., Rudofsky, U.H.: Renal tubular disease and autoantibodies against tubular basement membrane induced in guinea pigs
J.Immunol. 107:589, 1971
- (49) Stenglein, B., Thoenes, G.H., Günther, E.: Genetic control of susceptibility to autologous immune complex glomerulonephritis in inbred rat strains
Clin.exp.Immunol. 33:88, 1978
- (50) Striker, G.E., Schainuck, L.I., Cutler, R.E., Benditt, E.P.: Structural-functional correlations in renal disease. Part I: A method for assaying and classifying histopathologic changes in renal disease
Human Pathol. 1:615, 1970
- (51) Schainuck, L.I., Striker, G.E., Cutler, R.E., Benditt, E.P.: Structural-functional correlations in renal disease. Part II. The Correlations
Human Pathol. 1:631, 1970
- (52) Sugisaki, T., Klassen, J., Milgrom, F., Andres, G.A., Mc Cluskey, R. T.: Immunopathologic study of an autoimmune tubular and interstitial renal disease in Brown Norway rats
Lab.Invest. 28:658, 1973

- (53) Tanner,G.A.: Effects of kidney tubule obstruction on glomerular function in rats
Am.J.Physiol. 237:379, 1979
- (54) Unanue,E.R.,Dixon,F.J.: Experimental Glomerulonephritis
VI. The Autologous Phase of Nephrotoxic Serum
Nephritis
J.Exp.Med. 121:715, 1965
- (55) Unanue,E.R.,Dixon,F.J.: Experimental Glomerulonephritis
IV. Participation of Complement in Nephrotoxic
Nephritis
J.Exp.Med. 119:965, 1964

Danksagung

Herrn Prof. Dr. G.H. Thoenes danke ich für die Überlassung dieses Themas, seine stete Unterstützung bei der Betreuung dieser Arbeit und seine immer vorhandene Diskussionsbereitschaft.

Herrn Prof. Dr. K.H. Langer ehemals am Pathologischen Institut der Universität Mainz (Vorstand: Prof. Dr. W. Thoenes) gilt mein besonderer Dank für die Anfertigung und zum Großteil auch Befundung der histologischen Präparate.

Zu ganz besonderem Dank verpflichtet bin ich Herrn PD Dr. B. Leisner und seinen Mitarbeitern aus der Nuklearmedizinischen Abteilung der Radiologischen Klinik in der Med. Klinik Innenstadt. Ihre bereitwillige Zusammenarbeit und großzügige Unterstützung hat erheblich zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beigetragen.

In gleicher Form gilt mein Dank Frau PD Dr. J. Mason am Physiologischen Institut der Universität München für die Geduld, die sie mir beim Erlernen der Microfil- und Clearancetechniken entgegenbrachte, ihre ständige Hilfsbereitschaft und ihre stets kritischen Anregungen.

Nicht zuletzt danke ich den Mitarbeitern des Labors für die freundliche Aufnahme in ihren Kreis.

Lebenslauf

- 19.5.1958 geboren in Kaufbeuren als Sohn von Erich Tatsch, Exportkaufmann, und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Erlebach
- 1964-1968 Besuch der Volksschule in Kaufbeuren - Neugablonz
- 1968-1977 Besuch des Staatlichen Gymnasiums Kaufbeuren
- Mai 1977 Abitur
- 1978-1984 Medizinstudium an der Ludwig Maximilians-Universität München
- Okt. 1984 Ärztliche Prüfung und Approbation
- 1982-1985 Doktorand bei Prof. Dr. G.H. Thoenes im Immunbiologischen Labor der Med. Klinik Innenstadt der Ludwig Maximilians-Universität München

